



***EVALUATION DE TROIS TESTS DE DEPISTAGE DE LA  
BRUCELLOSE BOVINE POUR UNE AIDE DECISIONNELLE DE  
CONTROLE DE LA MALADIE DANS LE BASSIN LAITIER DE NIAMEY  
(NIGER)***

**MEMOIRE DE MASTER EN SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE**  
***Spécialité : Epidémiologie des maladies transmissibles et Gestion des Risques  
Sanitaires (EGRS)***

Présenté et soutenu publiquement le Mercredi, 16 Avril 2014 à 10 heures

Par :

**ADAMOU HAROUNA Halimatou**

Née le 02 Juillet 1983 à Niamey (NIGER)

**JURY**

---

**Président:**

**M. Louis Joseph PANGUI**

Professeur à l'EISMV de Dakar

**Membres:**

**M. Bhen Sikina TOGUEBAYE**

Professeur à la FST à l'UCAD

**M. Germain Jérôme SAWADOGO**

Professeur à l'EISMV de Dakar

**M. Rianatou BADA ALAMBEIDJI**

Professeur à l'EISMV de Dakar

**M Yaghoub KANE**

Professeur à l'EISMV de Dakar

---

**Directeur de Mémoire :**

**M. Philippe KONE**

Maître Assistant à L'EISMV

## DÉDICACES

Je rends grâce à **ALLAH**, Le Tout Puissant, Le Créateur, Le Miséricordieux et Son **PROPHETE Paix et Salut sur LUI**. C'est par votre volonté que je suis arrivée là. Que je ne m'écarte jamais de votre chemin !

Au terme de ce mémoire, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer mes remerciements et décrire mes sentiments à :

Ma mère, que nous avons vu vieillir mais qui garde toujours cette détermination de femme battante et pour qui la priorité demeure le bien-être et la réussite de ses enfants. Merci pour ton soutien à toute épreuve, ton amour et notre complicité.

Egalement à mes sœurs et frères, Annatou, Assatou, Vieux, Malick, Jules et Omar, pour leur soutien continu et nécessaire.

Ma belle-famille et la famille Salaou Barmou; ainsi que ma fidèle amie de tous les parcours Farilla.

Aussi et surtout à mon époux qui m'a tant soutenu et que j'ai tant fatigué. Merci de me remettre à chaque fois en confiance quand le doute s'installe et m'invite à l'abandon. A Tajira mon trésor, tu es le plus beau de nos projets. Merci pour ta patience (relative) alors que je finissais de rédiger ce manuscrit. T'avoir à mes côtés avec ta cousine Nousra est un émerveillement quotidien.

## REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude et profond respect à l'ensemble des personnes ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à Dr Philippe KONE, maître assistant à l'EISMV qui, a accepté d'être le promoteur et qui m'a aidé à trouver le bon chemin pour aboutir à une solution statistique et biologique solide, qui a toujours été disponible et à l'écoute de mes questions.

Merci à Pr Rianatou BADA ALAMBEIDJI, vous avez bien voulu apporter votre contribution à ce travail malgré vos innombrables tâches. Nous ne saurions jamais, en si peu de mots, vous exprimer ce que nous ressentons.

Dr Razac Boukary pour avoir mis à notre disposition des informations précieuses et pour le soutien.

Un merci particulier à Dr Ramou ABOUBACAR, directeur général des CMB qui m'a accueilli au Centre de Multiplication du Bétail et m'a permis d'avoir un financement afin de poursuivre bientôt mes études en PhD.

Nous remercions infiniment ainsi pour leur sollicitude et appui bienveillants :

- Tout le personnel de la Direction Générale des Centres de Multiplication du Bétail au Niger
- Dr Mahamadou Saley, Conseiller technique au ministère de l'Élevage, précédemment Directeur Général des Services Vétérinaires
- Dr Seydou Oumarou, Directeur de cabinet au ministère de l'Agriculture
- Le personnel du Centre Caprin de Maradi

## HOMMAGE A NOS MAITRES ET JUGES

- **A notre Maître et Président de jury, Monsieur Louis Joseph PANGUI Professeur à l'EISMV de Dakar.**

Nous sommes très honorés de vous avoir comme président du jury de mémoire, malgré vos multiples obligations. Ceci nous démontre une fois de plus la grandeur de vos qualités humaines. Veuillez accepter nos hommages respectueux.

- **A Notre Maître et juge, Monsieur. Germain Jérôme SAWADOGO, Professeur à l'EISMV de Dakar,**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de faire partie de ce jury de mémoire. Vos qualités intellectuelles, votre rigueur, votre générosité et votre abord facile nous ont marqués et nous serviront toujours d'exemple. Veuillez trouver ici l'assurance de notre sincère gratitude.

- **A Notre Maître et rapporteur de mémoire, Madame Rianatou BADA ALAMBEIDJI, Professeur à l'EISMV de Dakar,**

Nous sommes très honorés que vous ayez accepté de rapporter notre travail de mémoire. Veuillez chère Maître, trouver ici le modeste témoignage de notre profonde estime et de notre vive reconnaissance.

- **A Notre Maître et juge, Monsieur Yaghouba KANE, Professeur à l'EISMV de Dakar,**

Vos suggestions et vos remarques nous ont été d'une grande importance. Nos sincères remerciements.

- **A Notre Maître et Juge Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, Professeur à la FST à l'UCAD,**

Vous nous faites honneur de siéger dans notre jury, vos qualités d'Homme de Sciences ne sont plus à démontrer. Considération distinguée.

- **A Notre Maître, et Directeur de mémoire, Monsieur Philippe S KONE, Maître-assistant à l'EISMV Dakar,**

Encadrer ce travail a été un travail de longue haleine. Cependant, vous en avez assuré le suivi avec dextérité, rigueur démontrant ainsi votre abnégation pour le travail bien fait. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements et estime. L'amour pour le travail bien fait, la disponibilité, l'humilité et la compréhension dont vous avez fait preuve, suscite admiration et respect. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

## RESUME

La filière laitière du Niger est une filière jeune, dynamique qui fait face à plusieurs contraintes sanitaires et économiques dont l'une des plus importantes est la brucellose. La faible prévalence et le caractère enzootique de cette maladie doivent amener le pays à penser à l'étape d'éradication. La réussite de cette éradication dépendra d'un dépistage rapide et précis.

Une étude sur les caractéristiques de trois tests de dépistage et des stratégies décisionnelles de lutte contre la brucellose dans le bassin laitier de Niamey (Niger) a été menée. Elle a porté sur un échantillon de 127 vaches dans 9 sites urbains et de 92 vaches dans 4 sites périurbains, soit 219 vaches en lactation. Chacune de ces vaches de race Djeli, Azaouak et Bororo a été testée par l'ELISA sur du sérum considéré comme Gold standard et deux tests traditionnels qualitatifs, l'EAT sur du sérum et le RT sur du lait. Les résultats globaux obtenus montrent une différence significative entre les résultats obtenus par l'ELISA (4/219), l'EAT (12/219) et le RT (37/219). Il ressort que, le RT (Se: 75%, Sp: 84%) est plus sensible mais moins spécifique que l'EAT (Se: 25% et Sp:94%).

L'association en série des tests RT-ELISA (Se : 79,29%, Sp : 99,78%) et EAT-ELISA (Se : 24,10% et Sp : 99,93) ont amélioré la Sp et la VPP de 99%, réduisant le risque de faux positifs. L'association en parallèle du RT-ELISA (Se : 99,10% et Sp : 83,02%) et surtout l'EAT-ELISA (Se : 97,29% et Sp :93, 57%) ont donné des Se, Sp et des VPN (99,98% et 93,57%) satisfaisantes réduisant ainsi, le risque d'obtenir des faux négatifs mais des VPP faibles (9,79% et 21,95%).

La prise en compte de l'étude comparative des tests a permis l'élaboration d'un schéma décisionnel selon les réalités socio-économiques du Niger. Le RT paraît intéressant pour le dépistage du troupeau laitier et l'EAT pour le dépistage individuel sur les bovins laitiers ou non. Selon les réalités du Niger, les tests traditionnels réalisables sur du lait et du sérum présentent des avantages techniques (terrain, qualitatifs, faciles, rapides) et économiques. Cependant, leur défaut de sensibilité et de spécificité suggère la nécessité de leur association dans une perspective d'éradication de la brucellose. Ainsi, l'association en série est adaptée à la mise en œuvre d'un programme de dépistage systématique régulier à l'échelle individuelle. Par contre, compte tenue des coûts élevés de dépistage et d'abattage et de la faible VPP que l'association en parallèle génère, elle est adaptée seulement en cas d'émergence d'un foyer car elle prête l'avantage d'accélérer l'éradication.

MOTS – CLES : bovin– Laitier- Dépistage – brucellose –test – Eradication.

## ABSTRACT

The dairy sector of Niger is a dynamic young industry which faces several health and economic constraints. One of the most important is brucellosis. The low prevalence and enzootic character should lead the country to think about eradication. Its success will depend on fast and accurate screening tests.

A study was conducted on the characteristics of three screening tests and decision-making strategies against brucellosis in dairy area of Niamey (Niger).

A sample of 219 dairy cows was selected from 9 urban (127 cows) and 4 suburban sites (92 cows). This cattle's race is predominantly Djeli, and Azaouk Bororos were tested by ELISA on serum considered Gold standard qualitative and two traditional tests on the serum EAT and RT on the milk.

The tests used consisted of ELISA test which we considered as gold standard and two traditional qualitative tests; EAT on serum and RT on milk. The overall results show a significant difference between the results obtained by ELISA (4/219), the EAT (12/219) and RT (37/219). The results show that the RT is more sensitive (Se 75%, Sp: 84%) but less specific than EAT (Se 25% and Sp: 94%).

The association of tests in series of RT- ELISA (Se : 79,29%, Sp : 99,78%) or EAT-ELISA (Se : 24,10% et Sp : 99,93) improves Sp and VPP (Positive predictive value) of 99%, reducing the risk of false positives. The parallel combination RT-ELISA (Se : 99,10% et Sp : 83,02%) and especially EAT- ELISA (Se : 97,29% et Sp : 93, 57%) gives Se, Sp and satisfactory Negative predictive value, VPN (99,98% et 93,57%) thus reducing the risk of false negatives. The VPP (9,79% et 21,95%) are weak.

Consideration of the comparative study of tests led to the development of a decision support system according to the socio-economic realities of Niger. Thus, based on the intrinsic characteristics of each test, RT seems to be interesting to be used as first-line test of dairy herd and EAT as individual testing on dairy cows or not. These tests present technical advantages (practice on field, qualitative, easy, fast) and economic.

However, the lack of sensitivity and specificity of these tests suggests the need for a combination of tests with a prospect to eradicate the disease. Thus, the association of tests in series is suitable for the implementation of regular systematic screening test according to socio- economic realities of Niger. The association of tests in parallel due to high costs generated by the screening test, stamping out and low VPP (Positive predictive value), it can be adopted only in case of outbreak emergency because it has advantage to accelerate eradication.

**KEY - WORDS:** dairy - cow – Screening - brucellosis - Test - Eradication.

## SIGLES ET ABREVIATIONS

<b>B</b>	: <i>Brucella</i>
<b>CERVA</b>	: Centre d'Etudes et de Recherche Vétérinaire et agrochimique
<b>CUN</b>	: Communauté Urbaine de Niamey
<b>DO</b>	: Densité optique
<b>EAT</b>	: Epreuve à l'Antigène Tamponné (ou Rose Bengale)
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunosorbent assay
<b>FAO</b>	: Food and Agriculture Organization
<b>FC</b>	: Fixation du complément
<b>IC</b>	: Intervalle de confiance
<b>IgG</b>	: Immunoglobuline G
<b>IgM</b>	: Immunoglobuline M
<b>LPS</b>	: Lipopolysaccharide
<b>MRA</b>	: Ministère des Ressources Animales
<b>OIE</b>	: Organisation mondiale de la santé animale
<b>OMS</b>	: Organisation mondiale de la santé
<b>ONG</b>	: Organisation Non Gouvernementale.
<b>PCR</b>	: Polymerase chain réaction
<b>pH</b>	: Potentiel Hydrogène
<b>RFLP</b>	: Polymorphisme de Longueur de Fragment de Restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism)
<b>Se</b>	: Sensibilité
<b>Sp</b>	: Spécificité
<b>µl</b>	: Microlitre
<b>VPN</b>	: Valeur Prédictive Négative
<b>VPP</b>	: Valeur Prédictive Positive

---

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	: Différentiation des biovars des espèces du genre <i>Brucella</i> .....	3
<b>Tableau II</b>	: Immunoglobulines détectées par différentes techniques sérologiques.....	6
<b>Tableau III</b>	: Sensibilité et spécificité de deux tests associés (PRAUD 2010).....	13
<b>Tableau IV</b>	: Résultats obtenus par chaque test .....	14
<b>Tableau V</b>	: Résultats bruts globaux des trois tests .....	14
<b>Tableau VI</b>	: Tableau de contingence pour les bovins testés à l'ELISA et à l'EAT .....	15
<b>Tableau VII</b>	: Tableau de contingence pour les bovins testés à l'ELISA et RT .....	15
<b>Tableau VIII</b>	: Résultats croisés entre le RT et l'EAT .....	15
<b>Tableau IX</b>	: Résultats des prévalences relatives, coefficients Kappa et l'indice de Youden .....	16
<b>Tableau X</b>	: Caractéristiques des tests de dépistage de la brucellose bovine et leurs Intervalles de Confiance (IC 95%) par rapport au test de référence. ....	16
<b>Tableau XI</b>	: Sensibilité, Spécificité et Valeurs Prédicatives des tests de dépistage en série de la brucellose bovine (IC 95%).....	17
<b>Tableau XII</b>	: Sensibilité, Spécificité et Valeurs Prédicatives des différents tests de dépistage en parallèle de la brucellose bovine et leurs Intervalles de Confiance (IC 95%).....	19

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> :	Carte de la prévalence de la brucellose bovine établie sur la base des données.....	9
<b>Figure 2</b> :	Association de EAT-ELISA en série (schéma décisionnel « ET »).....	17
<b>Figure 3</b> :	Association de RT-ELISA en série (schéma décisionnel « ET »).....	17
<b>Figure 4</b> :	Association EAT- ELISA en parallèle (schéma décisionnel « OU »).....	18
<b>Figure 5</b> :	Association RT- ELISA en parallèle (schéma décisionnel « OU ») .....	18
<b>Figure 6</b> :	Programme de contrôle et d'éradication de la brucellose bovine dans les cheptels laitiers. RT: Ring Test, EAT: Epreuve à l'Antigène tamponné; ELISA; .....	26

## TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>2</b>
<b>Chapitre I. Données générales sur les brucelloses animales .....</b>	<b>2</b>
<b>I.1. Définition .....</b>	<b>2</b>
<b>I.2. Importance Socio-économique.....</b>	<b>2</b>
I.2.1. Impacts sociaux .....	2
I.2.2. Impacts économiques .....	2
<b>I.3. Agents pathogènes : les brucelles.....</b>	<b>3</b>
I.3.1. Taxonomie.....	3
I.3.2. Pouvoir pathogène.....	3
I.3.3. Pouvoir antigénique et immunogène.....	4
<b>I.4. La résistance. ....</b>	<b>4</b>
<b>I.5. Épidémiologie de la brucellose.....</b>	<b>4</b>
I.5.1. Épidémiologie analytique.....	4
I.5.1.1. Sources et Modes d'infection .....	4
I.5.1.2. Facteurs de réceptivité et de sensibilité.....	5
I.5.2. Epidémiologie synthétique .....	5
<b>I.6. Stratégies habituelles de détection de la brucellose et leurs limites.....</b>	<b>5</b>
I.6.1. Diagnostic clinique.....	5
I.6.2. Méthodes bactériologiques directes .....	5
I.6.3. Diagnostic par biologie moléculaire.....	6
I.6.4. Méthodes bactériologiques indirectes .....	6
I.6.4.1. Test de l'anneau ou Ring test .....	6
I.6.4.2. Epreuve de l'Antigène Tamponnée (EAT) ou Rose Bengale .....	6
I.6.4.3. ELISA (Enzym Linked ImmunoSorbent Assay).....	7
I.6.4.4. L'allergologie.....	7
I.6.5. Limites des tests sérologiques .....	7
<b>I.7. Moyens de Lutte.....</b>	<b>8</b>
I.7.1. Mesures sanitaires .....	8
I.7.2. Vaccination.....	8
<b>I.8. Situation actuelle de la brucellose.....</b>	<b>8</b>
I.8.1. dans le monde.....	8
I.8.2. Au Niger.....	9

<b>Chapitre II. Outils d'aide à la prise de décision : tests de dépistage-Diagnostic .....</b>	<b>10</b>
<b>II.1. Les caractéristiques d'un test de dépistage .....</b>	<b>10</b>
<b>II.2. Les caractéristiques d'un programme de dépistage .....</b>	<b>10</b>
<b>DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>11</b>
<b>Chapitre I: Matériel et méthodes .....</b>	<b>11</b>
<b>I.1. Matériel.....</b>	<b>11</b>
I.1.1. Zone d'étude.....	11
I.1.2. Matériel animal .....	11
I.1.3. Matériel de prélèvements .....	11
I.1.4. Matériel de laboratoire .....	11
<b>I.2- Méthodes.....</b>	<b>12</b>
<b>I.2.1. Prélèvements.....</b>	<b>12</b>
I.2.2. Techniques de laboratoire .....	12
I.2.3. Analyse des données et méthodes statistiques .....	13
<b>Chapitre II- RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>14</b>
<b>II.1- Résultats.....</b>	<b>14</b>
II.1.1. Résultats bruts globaux des trois tests: ELISA, EAT et RT .....	14
II.1.2. Tableaux de contingences .....	14
II.1.2.1. Résultats croisés aux deux tests l'EAT - l'ELISA.....	14
II.1.2.2. Résultats croisés entre le RT et l'ELISA .....	15
II.1.2.3. Résultats croisés des deux tests traditionnels.....	15
II.1.3. Estimation de la prévalence relative, de l'agrément entre les trois tests et de l'indice de Youden .....	15
II.1.4. Mesure de la validité des tests.....	16
II.1.4.1. Validité intrinsèque: sensibilités (Se) et spécificités (Sp) relatives des tests.....	16
II.1.4.2. Validité extrinsèque des tests: Les valeurs prédictives .....	16
II.1.5. Caractéristiques de l'association des tests.....	17
II.1.5.1. Association en série .....	17
II.1.5.1.1. Arbre décisionnel du testage en série (schéma décisionnel « ET »).....	17
II.1.5.1.2. Valeurs intrinsèques relatives des tests en série.....	17
II.1.5.1.3. Valeurs extrinsèques relatives des tests en série .....	17
II.1.5.2. Association des tests en parallèle.....	18
II.1.5.2.1. Arbre décisionnel du testage en parallèle(Schéma décisionnel «OU») .....	18
II.1.5.2.2. Valeurs intrinsèques relatives des tests en parallèle .....	18

II.1.5.2.3. Valeurs extrinsèques relatives des tests en parallèle.....	19
<b>II.2. DISCUSSION.....</b>	<b>20</b>
II.2.1. Choix de l'échantillon.....	20
II.2.2. Choix du test de référence.....	20
II.2.3. Résultats.....	20
II.2.3.1. Résultats bruts globaux.....	20
II.2.3.2. Présence de réactions douteuses.....	20
II.2.3.3. Absence de l'agrément entre les trois tests et l'indice de Youden.....	21
II.2.3.4. Validité des tests.....	21
<input type="checkbox"/> Valeurs intrinsèques de l'EAT.....	21
<input type="checkbox"/> L'indication des tests sur le terrain.....	22
<input type="checkbox"/> L'importance des valeurs prédictives.....	23
II.2.3.5. Choix des stratégies de testage.....	23
<b>III. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>24</b>
III.1. Evaluation des stratégies décisionnelles.....	24
III.1.1. Choix du testage en série.....	24
III.1.2. Choix du testage en parallèle.....	25
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>28</b>

## INTRODUCTION

Au Niger, la filière laitière est une filière jeune et dynamique qui fait face à une forte demande en lait et produits laitiers (VIAS *et al.*, 2006), en raison de la population forte consommatrice de lait. Cette filière génératrice de revenus est confrontée à la recrudescence de certaines zoonoses comme la brucellose (YAOU, 2006), qui est l'une des plus importantes du monde. La transmission de l'infection se fait surtout à partir de la consommation du lait cru ou la manipulation des avortons constituant ainsi, un risque non négligeable pour la santé du consommateur et de l'éleveur (HAROUNA, 2008). Par ailleurs, la brucellose représente un frein à l'économie nationale, aux échanges commerciaux et à l'amélioration génétique (MEMISH et BALKHY, 2004).

Diverses études épidémiologiques, consacrées à la brucellose en Afrique, ont montré des prévalences non négligeables selon les pays mais jusque là, elle retient moins l'attention de nos gouvernants et de nos bailleurs de fonds (AKAKPO *et al.*, 2013). C'est le cas du Niger où l'évolution de cette maladie est enzootique et elle ne fait pas l'objet de surveillance épidémiologique, malgré une séroprévalence troupeau significative de 13,8% et individuelle de 1,3% (BOUKARY *et al.*, 2013) à Niamey. Le traitement reste hasardeux et dangereux ; la vaccination présente des coûts élevés et l'abattage encore plus.

Le dépistage sérologique est un outil indispensable sur lequel repose la lutte offensive des maladies infectieuses animales (PRAUD, 2010). Certains pays développés ont pu obtenir un statut indemne de la brucellose avec l'exécution des programmes d'éradication basés sur la vaccination et essentiellement sur les détectations sérologiques (SHEY NJILA, 2005). Toutefois, les tests de dépistage employés sont complexes, plus ou moins fiables, plus ou moins coûteux et plus ou moins faciles à mettre en œuvre en fonction du contexte épidémiologique dans lequel ils sont utilisés (GADNER *et al.*, 2000). En Afrique, peu d'études sur la fiabilité de ces tests ont été menées dans ce sens. La nécessité d'évaluer les tests de dépistage de la brucellose utilisés dans le contexte éco-épidémiologique du Niger se présente afin de conforter les décisions sanitaires prises en vue de son éradication.

S'inscrivant dans la continuité de l'étude de BOUKARY *et al.*(2013), la présente étude a pour objectif général d'estimer l'incertitude liée à la détection de la brucellose par des tests de dépistage et leur intérêt pour la prise de décision sanitaire au Niger en vue de son contrôle et de son éradication. Il s'agira spécifiquement de :

- Déterminer les caractéristiques de deux tests de dépistage de la brucellose bovine par rapport à un test de référence;
- Evaluer les possibilités de les utiliser en association ;
- Proposer un arbre décisionnel utilisant l'un et/ou l'autre des trois tests pour une prise de décision sanitaire.

Le travail que nous rapportons ici comporte deux grandes parties:

- Une revue bibliographique sur les brucelloses animales;
- Une partie expérimentale dans laquelle nous présentons la zone, les méthodes d'étude, les résultats obtenus et leur discussion.

## **PREMIERE PARTIE: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **Chapitre I. Données générales sur les brucelloses animales**

#### **I.1. Définition**

D'une façon générale, la brucellose ou fièvre de Malte ou Mélitococcie est une maladie réputée contagieuse et classée sur la liste unique des maladies animales graves de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE, 2009). Cette maladie infectieuse, contagieuse et transmissible, se manifeste habituellement chez les animaux, sur le plan clinique, par des avortements d'où le nom d'avortement épizootique.

La brucellose est due à une bactérie du genre *Brucella* qui est un coccobacille intracellulaire facultatif; Gram négatif (figure1), immobile, non capsulé, sans flagelles et non sporulé. Il appartient à la classe des alpha-protéobactéries, l'ordre des *Rhizobiaceae* et à la famille des *Brucellaceae* (YANAGI et YAMASATO, 1993). C'est un pathogène qui tolère les températures jusqu'à 40°C et un pH optimal de 6,8. Les brucelles sont cultivées en aérobiose stricte et en présence de thionine; produisent du H<sub>2</sub>S et interviennent dans le métabolisme oxydatif en présence de divers substrats. Elles résistent à la décoloration par des acides faibles (ce qui explique l'utilisation de la coloration spéciale notamment celle de Stamp et Machiavello). Les colonies de brucelles apparaissent constantes, rondes, translucides, lisses ou rugueuses et convexes aux contours nets.

#### **I.2. Importance Socio-économique**

##### **I.2.1. Impacts sociaux**

Depuis 1955, les Etats-Unis ont produit des bombes contenant *B. suis* pour l'US Air Force (MAURIN, 2005). Les brucelles sont ainsi classées parmi les pathogènes potentiels du bioterrorisme (PAPPAS et al., 2006). Trois nouveaux défis ont relancé récemment l'intérêt médical vétérinaire pour cette maladie: son expansion dans la faune sauvage, l'inefficacité des certains vaccins disponibles et la découverte d'un nouveau réservoir chez les mammifères marins dont l'impact est quasi inconnu (MAURIN, 2005). L'incidence mondiale de la maladie est estimée à 500.000 cas/an (OMS, 2004), soit une incidence humaine annuelle, en 2001, de 4 à 5.10<sup>5</sup> cas humains (SAEGERMAN, 2007). Entre 2003 et 2004, des cas humains ont été recensés en Afrique notamment au Cameroun, en Ethiopie, au Kenya, au Nigéria, en Tanzanie, en Ouganda, au Burkina Faso, au Mali, au Congo, en Erythrée, en Namibie, au Swaziland (BOUNAADJA, 2010). La prévalence de la brucellose humaine a été estimée à 8,6 % au Niger (RAMBE, 1981). Dans ce pays, 90% des ménages consomment du lait cru, 77% manipulent les avortons et presque 35% des ménages d'éleveurs présentent des signes cliniques pathogmoniques de la brucellose à Niamey (HAROUNA, 2008). Le danger de cette maladie réside dans la consommation et la manipulation des produits infectés, la difficulté d'affirmer la guérison définitive (PILLY, 1993); la présence de symptômes peu spécifiques invalidant l'Homme et portant à confusion avec le paludisme.

##### **I.2.2. Impacts économiques**

Les pertes économiques sont estimées à près de 600.10<sup>6</sup> dollars en Amérique Latine (SAEGERMAN, 2007). En Afrique de l'Ouest, le troupeau laitier est affecté à 30%, et le rendement économique est réduit de 5,8% (BENKIRANE, 2001). On estime en 2002 que la production de lait et de viande en Afrique de l'Ouest pourrait augmenter de

56.168 millions de dollars/an si la brucellose était éradiquée (MANGEN et *al.*, 2002). Les pertes sont surtout liées aux multiples avortements, l'infertilité des vaches, la baisse de production laitière et la contamination du lait. L'importance économique que revêt cette zoonose oblige certains pays à recourir aux programmes d'abattage-indemnisation et de vaccination à coûts élevés.

### I.3. Agents pathogènes : les brucelles

#### I.3.1. Taxonomie

Conformément à la définition phylogénétique d'une espèce, le genre *Brucella* est divisé en six (6) espèces elles mêmes séparées en biovars, en fonction d'une relative spécificité vis-à-vis de leur espèce hôte animal naturel. On distingue: *B. melitensis* (3 biovars), *B. abortus* (9 biovars) le plus souvent rencontré en Afrique, *B. suis* (5 biovars), *B. ovis*, *B. canis* et *B. neotomae*. Deux espèces identifiées chez des mammifères marins ont été proposées: *B. ceti* chez les dauphins et *B. pinnipedialis* chez les pinnipèdes (FOSTER et *al.*, 2007). En 2007, une autre espèce *B. microti* est isolée chez les campagnols (*Microtus arvalis*) en République Tchèque et en 2008 chez les renards sauvages en Autriche (HUBALEK et *al.*, 2008). L'espèce *B. inopinata* a été isolée aux Etats Unis à partir d'une prothèse mammaire d'une patiente par SCHOLZ et *al.*, en 2009 et porte le nombre d'espèces de *Brucella* à dix à nos jours. Les brucelles affichent une proximité génétique avec quelques bactéries pathogènes ou symbiotiques des plantes du genre *Agrobacterium* et *rhizobium*, avec des pathogènes animaux (*Bartonella*) et avec des bactéries opportunistes ou telluriques (*Ochrobactrum*) (OIE, 2005).

**Tableau I:** Différentiation des biovars des espèces du genre *Brucella*

Espèce	Biovar	Culture CO2	Production H2s	Uréase	Croissance		Agglutination	
					Thionine	Fushine	A	M
<i>B.melitensis</i>	1 à 3	-	-	+	+	+	-	+
<i>B.abortus</i>	1 à 9	+	+	+	-	+	+	-
<i>B.suis</i>	1 à 5	-	++	+	+	-	+	-
<i>B.neotomae</i>		-	+	+	-	-	+	-
<i>B.ovis</i>		+	-	+	+	-	-	-
<i>B.canis</i>		-	-	+	+	-	-	-
<i>B.ceti</i>		-	-	+	+	+	+	-
<i>B.pinnipedialis</i>		+	-	+	+	+	+	-
<i>B. microti</i>		-	-	+	+	+	-	+

Source : OIE Terrestrial Manual (2008) et SCHOLZ et *al.* (2009)

#### I.3.2. Pouvoir pathogène

Le mécanisme d'installation de l'infection est commun à toutes les espèces et est influencé par l'âge, l'état physiologique, la porte d'entrée et les conditions d'entretien. Le pouvoir pathogène de *Brucella* se définit par sa toxicité à travers le lipopolysaccharide (LPS) et son aptitude à se multiplier dans les cellules du système réticulo-endothélial, de l'appareil génital et mammaire, ou articulaire.

### **I.3.3. Pouvoir antigénique et immunogène**

Les travaux les plus importants menés sur les antigènes brucelliques se réfèrent aux antigènes pour l'élaboration des vaccins et aux antigènes de diagnostic. On distingue :

- Les antigènes membranaires de surface dont l'Ag A dominant chez *B. abortus* et l'Ag M chez *B. melitensis* et à proportion égale chez *B. suis*. Ils sont constitués de LPS de surface de type S (Smooth). Quant-à l'antigène R (Rough), il est rencontré seulement chez *B. ovis* et *B. canis*. Le LPS est responsable du développement des anticorps détectés chez l'hôte.
- Des antigènes alternatifs ont été évalués et restent des candidats sérieux pour le diagnostic de la brucellose et/ou l'élaboration des vaccins. Ce sont: la protéine périplasmique BP26 (SECO-MEDIAVILLA et *al.*, 2003), les protéines ribosomiales L7/L12 (BACHRACH et *al.*, 1994) et la protéine cytoplasmique 18KDa (GAULDBAUM et *al.*, 1993) tous cités par BOUNAADJA (2010) . Cependant aucun de ces antigènes n'égale l'immunogénicité dominante du LPS, cible des tests diagnostics classiques qui présente donc toujours des performances pour le moment.

L'immunité est à la fois à médiation humorale mais surtout à médiation cellulaire et variable selon les souches. Dans les conditions naturelles, il existe une protection pour les animaux déjà infectés. C'est le cas de la brebis qui avorte une seule fois et de la vache qui avorte plusieurs fois mais à un rythme décroissant.

### **I.4. La résistance.**

Le genre *Brucella* offre une grande résistance à la température ordinaire et basse (4 à 21°C), mais est détruit par les rayons solaires et la pasteurisation. Il est sensible aux désinfectants usuels (soude, hypochlorite), à de nombreux antibiotiques et au pH faible (détruits par les ferments lactiques) (BONFOH et *al.*, 2002).

### **I.5. Épidémiologie de la brucellose**

#### **I.5.1. Épidémiologie analytique**

##### **I.5.1.1. Sources et Modes d'infection**

- Les animaux infectés ou les porteurs latents constituent les sources de contagion durant toute leur vie. Le contenu de l'utérus gravide, les sécrétions vaginales, l'urine contaminée, le colostrum, le lait et le sperme de ces animaux représentent les matières virulentes.
- L'infection se fait par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive et vénérienne. Quelle que soit l'espèce animale ou l'Homme, la transmission de la maladie peut se faire de manière verticale (in utero ou pendant la parturition) ou de manière horizontale par contact direct entre les sujets sains et infectés et par l'intermédiaire de matières virulentes, des locaux et matériels souillés et des produits infectés (lait et viande).
- Très peu de cas de transmission interhumaine ont été signalés (GODFROID et *al.*, 2005), mais il a été suggéré une transmission interhumaine entre un microbiologiste travaillant sur *Brucella* et sa femme (RUBEN et *al.*, 1991) d'une part, et d'autre part la contamination d'un nouveau né ayant été allaité par le lait maternel infecté (PALANDUZ et *al.*, 2000).

### **I.5.1.2. Facteurs de réceptivité et de sensibilité**

Chaque espèce de *Brucella* semble avoir son espèce animale préférée, mais cette spécificité d'espèce n'est pas stricte car certaines espèces animales font une infection liée à la présence d'autres types de brucelles. C'est le cas de la chèvre qui résiste à l'infection par *B. abortus*, alors que le bovin et l'ovin sont des hôtes préférentiels de *B. abortus* ; et les ovins, de *B. ovis*. La gestation est un important facteur de sensibilité. Toutefois, la brebis exprime rarement une infection à *B. ovis*, tandis que le bélier présente dans 50% des cas de symptômes. Les jeunes restent des porteurs latents car la maladie ne s'exprime qu'après la puberté pour rester infectés toute leur vie (SAEGERMAN, 2005).

### **I.5.2. Epidémiologie synthétique**

Les causes les plus fréquentes de contamination d'un cheptel restent l'introduction d'un animal infecté inapparent et les contaminations de voisinage. Une fois introduite au sein d'une exploitation, la maladie diffuse très rapidement et peut atteindre tout l'effectif mais surtout les femelles à maturité sexuelle. Elle se répand dans les autres troupeaux de tout le pays sous un mode épizootique avec des avortements en série ou de façon progressive sous un mode enzootique. La conservation de jeunes femelles nées de mères infectées est aussi à l'origine d'une résurgence de la maladie dans les cheptels assainis. La maladie est plus fréquente en milieu rural qu'en milieu urbain (HAROUNA, 2008).

## **I.6. Stratégies habituelles de détection de la brucellose et leurs limites**

### **I.6.1. Diagnostic clinique**

On suspectera la brucellose au sein d'un cheptel en cas d'avortements tardifs avec rétention partielle ou totale du placenta, de stérilité ou de prolongation des intervalles de mises bas, d'arthrites, de mammites, d'orchites et d'échecs répétitifs à l'insémination artificielle (OUEDRAOGO, 2001). Le diagnostic différentiel de la brucellose repose sur les maladies abortives d'origine infectieuse (campylobactériose, salmonellose, fièvre Q, chlamydie, listériose, fièvre de la Vallée du Rift, etc.) ou d'origine parasitaire (toxoplasmose, etc.). Il repose également sur des maladies d'origine alimentaire ou traumatique (DEAN et al., 2013). C'est pourquoi, il est nécessaire d'avoir recours à d'autres méthodes qui utilisent surtout la bactériologie, et les marqueurs de l'infection (sérologie et allergologie).

### **I.6.2. Méthodes bactériologiques directes**

La première méthode consiste à fixer sur lame les prélèvements par la chaleur à 37°C ou à l'éthanol puis les colorer par la méthode de Koster et Stamp ou par immunofluorescence. Les Brucelles sont identifiées au microscope sous forme d'agrégats intracellulaires. C'est une méthode sûre, mais peu spécifique (confusion possible avec *Chlamydia* et *Coxiella*), fastidieux et dangereux de part la manipulation. De plus, elle présente une faible sensibilité pour le lait et produits laitiers ou les brucellas sont en faible quantité et l'interprétation est souvent rendue difficile par la présence des globules gras.

La deuxième méthode est utilisée pour typer la souche bactérienne (espèce et biovars) Elle consiste à isoler et mettre en culture sur milieux sélectifs pendant trois à quatre

jours pour obtenir des colonies de brucelles constantes rondes, translucides, lisse ou rugueuses, convexes à contours nets.

### **I.6.3. Diagnostic par biologie moléculaire**

Depuis quelques années, l'utilisation de la technique de PCR en temps réel dans le diagnostic de la brucellose se multiplie. C'est une technique d'identification des acides nucléiques par amplification en chaîne par polymérase. Elle est réalisée à partir de différents échantillons : sang, lait, sécrétion nasale, rate, sperme, de ganglions lymphatiques et de fœtus avorté (BOUNAADJA, 2010). La difficulté majeure provient de la présence possible d'inhibiteurs de PCR et/ou d'une quantité trop importante d'ADN pouvant interférer sur la PCR selon l'origine des échantillons (PROBERT *et al.*, 2004). La PCR sert à la détection des souches vaccinales B19, Rev.1 et RB51. D'autres techniques moléculaires comme la RFLP, le Southern Blot récemment mises au point, permettent également la détection et l'identification des espèces de *Brucella* et de leurs biovars (BOUNAADJA, 2010).

### **I.6.4. Méthodes bactériologiques indirectes**

Généralement, elles utilisent des antigènes des souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *B. abortus biovar 1* pour mettre en évidence les «marqueurs» de l'état d'infection (anticorps sériques, allergie) (OUEDRAOGO, 2001). Le tableau II montre les techniques les plus couramment employées ainsi que les immunoglobulines détectées. Les défauts de sensibilité et de spécificité font qu'aucune épreuve sérologique prise isolément ne suffit pour détecter tous les animaux infectés ou les porteurs latents ou chroniques si on tient compte de la cinétique des anticorps (NIELSEN, 2002).

**Tableau II : Immunoglobulines détectées par différentes techniques sérologiques**

<b>Epreuves sérologiques</b>	<b>Immunoglobulines</b>
Séroagglutination de Wright	Ig G2 + Ig M
Rose Bengale	Ig G1+IgM
Fixation du complément	Ig G1+ IgM
Ring test	Ig G1+ IgM+ IgA
ELISA	IgG+IgM

#### **I.6.4.1. Test de l'anneau ou Ring test**

Il s'agit d'une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Il est particulièrement bien adapté au dépistage d'une éventuelle infection dans un troupeau laitier. La présence de réactions positives douteuses ou de faux positifs (animaux récemment vaccinés, colostrum ou lait de mammite) est due à la sensibilité du test (FAO, 2008) nécessitant alors une confirmation par ELISA.

#### **I.6.4.2. Epreuve de l'Antigène Tamponnée (EAT) ou Rose Bengale**

C'est un test qualitatif sur du sérum, rapide, simple et économique (GALL et NIELSEN, 2004) largement utilisé, qui se base sur le principe d'agglutination sur lame en milieu tamponné (pH=3,6 pour éliminer les agglutinations non spécifiques). Des réactions négatives par défaut sont rares et sont souvent liées à un phénomène de zone, aisément mis en évidence en diluant le sérum avant épreuve ou en testant de nouveau l'animal

plus tard. Cette technique est prescrite pour le dépistage des troupeaux et des animaux individuels car réputée très spécifique ( $Se > 95\%$ ) et sensible ( $Sp > 90\%$ ) (OIE, 2008).

#### **I.6.4.3. ELISA (Enzym Linked ImmunoSorbent Assay)**

- L'ELISA indirect ou iELISA utilise comme antigène le LPS-S. En plus d'être automatisable, rapide, et performant, il est considéré comme le meilleur test de tamisage utilisé dans les programmes de suivi et de contrôle de la Brucellose (PERCY et al., 1998). Il permet de valider des résultats dans des conditions de contrôle de la qualité et se prête à l'analyse d'un nombre élevé d'échantillons de lait individuel ou de lait en vrac (ZINSSTAG, 2003). L'ELISA est sensible mais sa spécificité est plus faible que celles de l'épreuve de Rose Bengale et de fixation du complément. Il est incapable de différencier certains anticorps post vaccinaux (*B. abortus B19*) (RIVERA et al., 2003).
- Quant-à l'ELISA de compétition, il est plus spécifique et évite les réactions dues aux anticorps post-vaccinaux du vaccin B19.
- Récemment, certains chercheurs ont mis au point une épreuve immuno-enzymatique à l'avidine-biotine (ELISA A-B). Elle est considérée comme une épreuve qui fait preuve de robustesse et de performance en termes de spécificité et de sensibilité (98,8% et 98,2%) comparables à celles de l'épreuve ELISA indirect. De plus, son coût est inférieur à celui des troussees ELISA actuellement commercialisées (RENU-KARADHYA et al., 2001).

#### **I.6.4.4. L'allergologie**

L'allergologie permet de révéler un état d'hypersensibilité retardé car les *Brucella* possèdent un pouvoir allergique. Elle est spécifique mais peu sensible et ne différencie pas un infecté d'un vacciné.

#### **I.6.5. Limites des tests sérologiques**

Les épreuves classiquement utilisées dans le diagnostic de la brucellose bovine font appel à un antigène *B. abortus* biovar 1 en phase lisse. Elles permettent donc la mise en évidence des anticorps dirigés contre l'antigène LPS-S de *B. abortus*, *B. melitensis* ou *B. suis* mais ne sont pas adaptées à la recherche des anticorps de surface LPS-R qui caractérisent *B. ovis* ou *B. canis*.

La spécificité d'un test est relative du fait de l'existence des réactions croisées avec d'autres bactéries et la sensibilité selon le type de technique utilisé. En effet, les chaînes latérales O du LPS-S sont constituées d'un homopolymère comprenant environ cent résidus de 4-formamido-4,6-didéoxy-D-mannopyranosil, support essentiel des réactions croisées entre *Brucella.spp* et *Yersinia. enterocolitica* O : 9, ou plus accessoirement à *Xanthosoma maltophyla*, *Francisella tularensis*, *vibrio cholerae* O : 1 *Escherichia hermannii*, *E. Coli* O : 157 ou *Salmonella urbana* O : 30 (GALL et al., 2004). Toutefois, pour contourner le sérieux obstacle de parenté antigénique, plusieurs chercheurs comme KUMAR et al. (2007) ont produit des anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine périplasmique BP26 et ont mis au point d'autres tests alternatifs d'ELISA ayant une sensibilité et une spécificité meilleures. Enfin, il peut exister des interférences entre les anticorps témoins de l'infection et ceux induits par la vaccination.

## **I.7. Moyens de Lutte**

### **I.7.1. Mesures sanitaires**

Le traitement de la brucellose animale apparaît comme une opération hasardeuse et dangereuse qui doit être proscrite à cause de la difficulté d'obtenir une stérilisation définitive. Par conséquent, les efforts doivent être plutôt dirigés vers le contrôle et l'éradication de la maladie (SHEY NJILA, 2005). En Général, la lutte repose sur le traitement thermique des aliments, la protection des professionnels à risque, la vaccination du bétail, l'élimination des animaux infectés et le contrôle des mouvements d'animaux. En Afrique subsaharienne, la politique d'élimination des animaux infectés n'est pas applicable en ce moment par manque de volonté politique nécessaire à la mise en place de moyens de compensation et de logistique de dépistage. Ainsi, ces impératifs obligent à pratiquer une prophylaxie médicale ou au mieux médico-sanitaire même si les mesures prises sont à l'état embryonnaire ou presque inexistantes (ZINSSTAG et *al.*, 2003). Cela tient de la subtilité de la contagion, la discrétion des symptômes, les difficultés du diagnostic et du dépistage (OUEDRAOGO, 2001). La lutte offensive repose sur le dépistage des animaux infectés, leur isolement et élimination rapide. La lutte défensive concerne surtout la surveillance de routine, le contrôle à l'introduction d'un animal et la protection d'un cheptel sain à la contamination de voisinage.

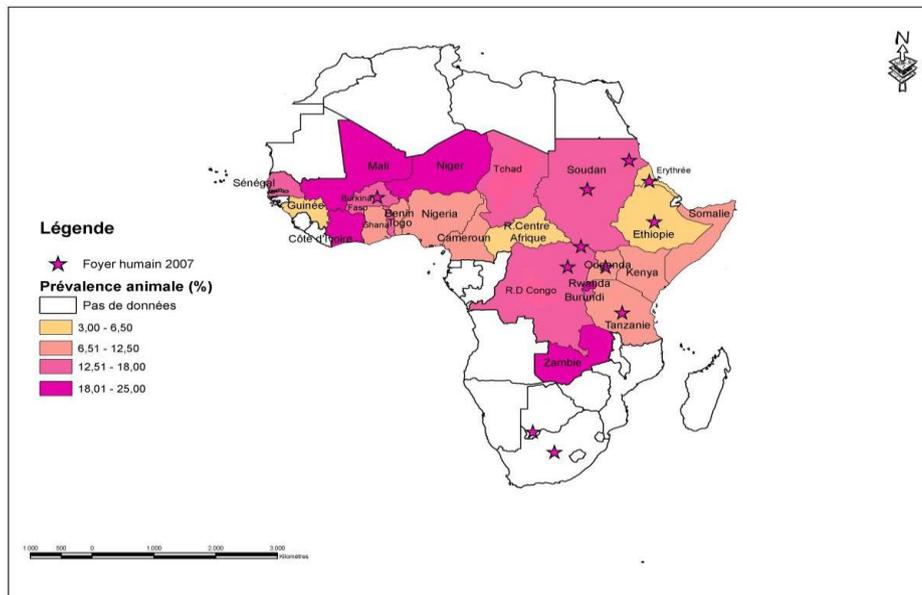
### **I.7.2. Vaccination**

Les meilleurs résultats d'un programme de vaccination systématique sont obtenus pour une couverture annuelle de 70 % à 90 % pendant 7 à 10 ans sur des veaux de moins de huit (8) mois (AKAKPO et *al.*, 1986). Elle est indiquée en milieu très infecté pour limiter les pertes liées aux avortements et en milieu menacé pour réduire les risques de dissémination de l'agent pathogène. En revanche, elle est contre-indiquée en milieu indemne en raison des interférences possibles avec la prophylaxie sanitaire fondée sur le dépistage. La vaccination de rappel n'est pas recommandée. On distingue les vaccins à *Brucella* vivants et les vaccins à *Brucella* inactivés. Les vaccins B19 et RB51 à *B. abortus* sont utilisés chez les bovins (EL IDRISSEI et *al.*, 2001). Par ailleurs, le seul vaccin autorisé chez les petits ruminants, est modifié avec la souche Rev1 à *B. melitensis* (FAO, 2006). La vaccination doit être associée au dépistage et à l'élimination des animaux infectés pour conduire à une éradication de la maladie.

## **I.8. Situation actuelle de la brucellose**

### **I.8.1. dans le monde**

La brucellose est une zoonose majeure, de répartition mondiale car jusqu'en 2001, seulement dix sept (17) pays étaient indemnes (MEMISH et *al.*, 2004). Cette maladie a une prédominance dans le bassin méditerranéen, l'Asie de l'ouest, le Moyen orient, l'Amérique centrale et l'Afrique noire (OMS, 2004). En 2003, sur 174 pays ayant fourni des informations, 157 pays ont déclaré l'existence de l'infection chez les bovins sur leur territoire et 155 pays sur les ovins et caprins (OIE, 2005). La brucellose serait maîtrisée dans les pays développés grâce à la prise de conscience de l'importance de cette maladie et aux mesures prophylactiques adéquates appliquées. En Afrique subsaharienne, la plupart des enquêtes et recherches menées ont porté surtout sur l'épidémiologie et sur les prévalences (figure 1).



**Figure 1: Carte de la prévalence de la brucellose bovine établie sur la base des données Bibliographiques entre 1955 et 2009 et des foyers humains déclarés en 2007 en Afrique subsaharienne (Boukary *et al.*, 2013)**

### I.8.2. Au Niger

Le Niger, pays sahélien possède un cheptel estimé à 31.039.041 animaux (MRA, 2013) toutes espèces confondues dont 9.552.600 de bovins. La filière laitière autour de Niamey est une filière jeune et dynamique induite par la forte urbanisation et la demande sans cesse croissante de la population forte consommatrice en lait et produits laitiers (VIAS *et al.*, 2003). Même si la plus grande production laitière est attribuée aux petits ruminants compte tenue de leur avantage numérique, la consommation du lait provenant de ces espèces est très faible par rapport à celle du lait bovin (MRA, 2013). La consommation annuelle individuelle en lait est de 37 à 168l/habitant. La couverture des besoins en lait et dérivés (lait caillé, fromage) est assurée par les systèmes de transformations traditionnels et les industries laitières qui transforment plus de 90% de lait en poudre (YAOU, 2006). Cette filière fait face à plusieurs contraintes sanitaires et économiques dont l'une des plus importantes est la brucellose. C'est une maladie prioritaire mais qui reste toujours négligée. Plusieurs enquêtes ont été réalisées pour connaître la situation épidémiologique de la brucellose au Niger chez les bovins et les petits ruminants. Les travaux menés par ALI (1980) signalent des taux d'infection de 4,85% chez les bovins, 12,2% chez les ovins et 18,3% chez les caprins dans le département de Niamey. Dans les villes de Niamey et Zinder, AKAKPO *et al.* (1986) ont révélé la présence des souches de *Brucella abortus* biotype 3 et une prévalence sérologique de 30%. En 1997, une enquête sérologique à l'échelle nationale, a révélé une prévalence de brucellose bovine de 1,88% (MRA, 1997). En 2002, en vue d'un dépistage systématique sur les zébus, le Centre de Multiplication du Bétail (CMB), a obtenu une séroprévalence de 6,11% (MRA, 2013). En 2007, des analyses sérologiques ont été réalisées dans le bassin laitier, grand pourvoyeur en lait et produits laitiers de la capitale nigérienne. Une prévalence de 7,06% au Rose Bengale sur 3890 animaux a été obtenue. Parallèlement sur 535 femelles en lactation, 16,63% sont reconnues brucelliques au Ring Test (HAROUNA, 2008). Le test ELISA a donné pour les mêmes prélèvements une prévalence troupeau de 13,8% et individuelle de 1,3%. La souche isolée sur des hygromas est *B. abortus* biovar 3 (BOUKARY *et al.*, 2013).

Concernant les petits ruminants, GIDEL *et al.* (1974), SALEY (1983), BLOCH *et al.* (1991) et HAROUNA (2008) ont montré l'existence de la brucellose chez ces espèces mais de façon discrète et à un faible taux (quasi nul à moins de 7%).

## **Chapitre II. Outils d'aide à la prise de décision : tests de dépistage-Diagnostic**

La conception d'un protocole de lutte contre une maladie nécessite de disposer d'informations sur les caractéristiques biologiques, cliniques et épidémiologiques de la maladie dans la population concernée, afin de juger de l'opportunité de mettre en œuvre la lutte, et, le cas échéant, de cibler les individus concernés et de choisir les modalités de la lutte. Deux approches sont utilisées: le dépistage et le diagnostic.

Le dépistage permet de trier au sein d'un troupeau les animaux probablement infectés des individus indemnes. Il doit être simple, fiable, rapide, reproductible, valide et peu coûteux. L'interprétation des résultats nécessite de connaître à la fois les caractéristiques du test, mais également le contexte épidémiologique dans lequel celui-ci est réalisé.

### **II.1. Les caractéristiques d'un test de dépistage**

- **Les caractéristiques intrinsèques** sont: la sensibilité (Se) et la spécificité (Sp). La qualité d'un test dépend de ces paramètres qui sont des valeurs dites « intrinsèques » car elles sont censées demeurer constantes quelle que soit la prévalence de la maladie dans la population d'individus soumis au test (TOMA *et al.*, 2010). Elles sont influencées par la nature de l'échantillon (âge, sexe, race, immunité, contamination ou détérioration), l'épreuve (technicien) et le résultat de l'épreuve (OIE, 2009). Plus un test est sensible moins il comporte de faux négatifs et plus un test est spécifique moins il occasionne des faux positifs. Le meilleur test de dépistage est celui qui offre un bon compromis entre la sensibilité élevée (pour détecter le plus grand nombre de bovins suspects) et la spécificité élevée pour éviter un re-test inutile des non infectés.
- **Les paramètres extrinsèques** sont les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) dépendant de la prévalence de la maladie. Elles permettent d'évaluer la pertinence d'utilisation des tests dans la population étudiée (GREINER et GARDNER., 2000). Ainsi, dans un cheptel avec une prévalence relative faible, la VPP des tests sera plus faible tandis que la VPN augmente. Il faut donc faire des tests de contrôle sur les échantillons «positifs» au dépistage (SIBILLE, 2006).

### **II.2. Les caractéristiques d'un programme de dépistage**

Il faut distinguer les caractéristiques d'un test de dépistage aux caractéristiques d'un programme ou stratégie de dépistage qui mesure la capacité que la maladie soit détectée par le programme. Elle se fait soit en série pour améliorer la spécificité, soit en parallèle pour améliorer la sensibilité. Tous ces paramètres sont évalués par rapport à un second test de référence (PRAUD, 2013). Tout programme de lutte repose, d'abord, sur un recensement des cheptels et sur la mise en place d'un réseau d'épidémiosurveillance dont les principaux acteurs sont les éleveurs, les vétérinaires et le personnel des laboratoires (SAEGERMAN, 2005).

Le risque non négligeable, vue l'importance sanitaire, économique et la chronicité de la brucellose chez les bovins, doit amener les autorités nigériennes à penser à l'étape de contrôle et d'éradication dans le bassin laitier du Niger. C'est la finalité de notre travail qui va être présenté dans la deuxième partie.

## **DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE**

Sur l'initiative du Projet Lait Sain pour le Niger (PLSN), et vue l'importance socio-économique de la brucellose dans les élevages laitiers urbains et périurbains à Niamey au Niger, les enquêtes préliminaires avaient été entreprises sur le terrain pour connaître la prévalence de la brucellose sur 3890 sérums et 535 échantillons de lait. Ce travail se poursuit par l'approfondissement de l'analyse statistique des résultats des tests de dépistage. Le but est de déterminer, à partir d'un test de référence (ELISA) choisi, la sensibilité et la spécificité relatives de l'EAT sur le sérum et du RT sur le lait. Ceci permettra ainsi de comparer les caractéristiques des trois tests comme en prélude, leurs associations pour l'exécution des programmes de contrôle et d'éradication.

### **Chapitre I: Matériel et méthodes**

#### **I.1. Matériel**

##### **I.1.1. Zone d'étude**

La zone où a eu lieu l'étude, est considérée comme «le bassin laitier de Niamey» car la quasi-totalité du lait frais consommé y provient. On distingue 13 sites dont:

- Neuf (9) sites du milieu urbain constitués par les grandes agglomérations localisées au bord du fleuve Niger dans la partie ouest du pays, entre 2°14 de longitude Est et 13°33 et 13°36 de latitude Nord d'une superficie de 236,26 km<sup>2</sup>. Ces sites correspondant à la zone d'activité du projet sont: Bandabari, Bobiel, Koira-Tegui, Kirkissoye, Lamordé, Route -Filingué, Sekirey, Talladjé, Yantala-Bas.
- Quatre (4) sites du milieu périurbain formés d'élevages traditionnels. Ils s'étendent sur un rayon de 30 à 70 km, et regroupent tous les quartiers périphériques, les hameaux et les villages environnants. Ce sont : Gorou-kirey, Guessel Bodi, Louayé et Saga-Gourma.

Le climat est de type soudano-sahélien. La pluviométrie est en moyenne de 545 mm/an sur une durée moyenne de 105 jours (Juin à Septembre) avec une tendance à la baisse au cours de ces dernières années. Par ailleurs, les températures moyennes se situent entre 22,13°C en saison sèche froide et 36,02°C en saison sèche chaude.

##### **I.1.2. Matériel animal**

Le choix des animaux a porté sur 219 vaches en lactation dont 127 du milieu urbain et 92 du milieu périurbain. Elles sont majoritairement âgées de plus de 7 ans et à prédominance de la race Djéli, suivie de la race Azaouak, Bororo et métisses. Des Prélèvements de lait et de sérum ont été récoltés sur chacune des 219 vaches.

##### **I.1.3. Matériel de prélèvements**

Des tubes VENOJECT® secs et des aiguilles vacutainer (PRECISIONGLIDE™) : 0,8 x 38 mm (21G1.5) ont servis aux prélèvements de sérum d'une part, et d'autre part, des tubes à essai stériles pour récolter le lait.

##### **I.1.4. Matériel de laboratoire**

- **Pour le Ring Test** le matériel utilisé est le suivant :
  - un portoir, et des pipettes de 5 à 10 cc ;
  - Une hotte de ventilation à flux laminaire verticale et un incubateur à 37°C ;
  - Un réactif ANOTEST Antigène à base de *B. abortus* de l'institut POURQUIER.

- **Pour l'EAT et l'ELISA** le matériel utilisé est composé de :
  - Un congélateur à  $-20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  pour la conservation des sérums;
  - Une centrifugeuse pour la collecte des sérums,
  - Des tubes eppendoff, des microplaques et une boîte de lecture éclairante ;
  - Une micropipette de précision avec des cônes à usage unique pour la distribution de sérum (30  $\mu\text{l}$ ) et de l'antigène (30  $\mu\text{l}$ );
  - Une baguette fine en verre, un chronomètre;
  - Des kits Rose Bengale et Elisa contenant un sérum de référence, des Réactifs Spécifiques (Antigène souche 99 de Weybridge), une solution de dilution, de lavage et d'arrêt du laboratoire de l'institut POURQUIER de France.

## **I.2- Méthodes**

### **I.2.1. Prélèvements**

- ✓ **Le prélèvement de lait:** s'est déroulé d'Octobre à Novembre 2007 lors de la traite du matin à 6h. Après désinfection des trayons, quelques jets de lait des quatre trayons de chaque femelle en lactation ont été recueillis dans un tube stérile. Ces derniers sont conservés dans une glacière jusqu'à leur acheminement au laboratoire du projet.
- ✓ **Le prélèvement des sérums** a été conduit de Décembre 2007 à Février 2008. Pour chaque animal faisant parti de l'échantillon, du sang a été prélevé à la veine jugulaire dans un tube sec sans anticoagulant préalablement identifié, et conservé sous glace.
- ✓ Des informations complémentaires ont été recueillies sur chaque animal, son âge, son origine et son propriétaire.

### **I.2.2. Techniques de laboratoire**

Trois types d'analyses ont été réalisés dans trois laboratoires différents à partir d'un matériel classique.

- ✓ Les analyses sur le lait ont été faites à partir de la technique du Ring Test dans le laboratoire PLSN. La présence d'un anneau moins coloré que le lait sous-jacent indique que le résultat est négatif mais quand l'anneau est plus coloré le résultat est positif.
- ✓ Les sérums ont été testés à l'aide du Rose Bengale selon la technique décrite par ALTON et *al.* (1988) au Laboratoire National Vétérinaire du Niger (LABOCEL). Le Réactif Spécifique (souche 99 de Weybridge) utilisé pour l'EAT était standardisé selon les recommandations de l'OIE et de l'Union Européenne (OIE, 2009). Ainsi, la formation d'une agglutination entre le sérum et l'Ag tamponné indique un résultat positif.
- ✓ L'ELISA a été réalisé aussi sur les sérums selon la méthode développée par LIMET et *al.* (1988) au Centre d'Etudes et de Recherche Vétérinaire et agrochimique (CERVA) en Belgique selon la Norme ISO 17025. Les seuils de positivité utilisés étaient ceux recommandés par les fabricants. Les pourcentages (%) de densité optique (D.O.) sont obtenus selon la formule normalisée suivante :  $\% \text{ D.O.} = (\text{D.O.Échantillon} - \text{D.O.Témoin Négatif}) / (\text{D.O.Témoin positif} - \text{D.O.Témoin Négatif})$ . Le seuil est de 0,166- 0,210-. L'échantillon positif a une valeur moyenne minimale (D.O 450 du lecteur ELISA) de 0,350. Un rapport minimal de 3 est obtenu entre la D.O 450 moyenne de l'échantillon de contrôle positif et la D.O 450 moyenne de l'échantillon de contrôle négatif.

### I.2.3. Analyse des données et méthodes statistiques

La capacité du test à prédire si l'infection est présente se mesure à l'aide d'un groupe de bovins dont on sait déjà s'ils sont infectés ou pas (la présence ou l'absence de l'infection ayant été établie par le test gold standard). Les caractéristiques du test de référence données par BOUKARY et *al.* (2013) sont : Se= 96,39 IC : 95% (92,72 – 99,84) et Sp= 98,61 IC : 95% (96,00 – 99,89).

Les données ont été saisies dans le logiciel Excel puis les tableaux de contingences ont servi à l'analyse de la validité intrinsèque et extrinsèque des tests sur le logiciel WINEPISCOPE à travers les paramètres suivants :

- ✓ **La sensibilité (Se)** se mesure chez les animaux infectés. C'est l'aptitude du test à donner un résultat positif chez un infecté =  $P(T+ | D+) = VP / (VP + FN)$
- ✓ **La spécificité (Sp)** se mesure chez les animaux non infectés. C'est l'aptitude du test à donner un résultat négatif chez un bovin sain =  $P(T- | D-) = VN / (VN + FP)$ . Soit Vrai positif (VP), Faux positif (FP), Faux négatif (FN) et Vrai négatif (VN)
- ✓ **Les valeurs prédictives** aident à prendre une décision sur les résultats obtenus. Ce sont des probabilités qu'un résultat positif ou négatif corresponde à un animal réellement atteint ou pas de la maladie. Elles se définissent comme suit:  $VPP = p.Se / p.Se + (1 - p). (1 - Sp)$  et  $VPN = (1 - p).Sp / (1 - p).Sp + p. (1 - Se)$ .
- ✓ **Les intervalles de confiances à 95%** se calculent selon la formule  $IC = p \pm 1,96 \sqrt{p(1 - p)/n}$  avec p= Paramètre à calculer et n= 219. Ils indiquent les valeurs réelles des paramètres étudiés.
- ✓ **Le coefficient Kappa K** =  $(Po - Pe) / (1 - Pe)$  Avec: Po la proportion d'accord observée entre les deux tests et Pe la proportion d'accord aléatoire, ou concordance attendue sous l'hypothèse d'indépendance des jugements. Il chiffre l'intensité de l'accord réel entre des jugements qualitatifs appariés afin de prouver l'agrément entre les tests. Il varie de 0 à 1.
- ✓ **L'index de Youden (J)** défini par :  $J = Se + Sp - 1$ . C'est un indice associant sensibilité et spécificité qui mesure l'efficacité diagnostique d'un test. Il varie de -1 à +1. Il atteint sa valeur maximale lorsque la somme des erreurs par excès (faux positifs, risque  $\alpha$ ) et des erreurs par défaut (faux négatifs, risque  $\beta$ ) est minimale.
- ✓ Les tests sérologiques donnent parfois des résultats positifs ou négatifs qui ne correspondent pas au statut «infecté» ou «indemne». Selon SAEGERMAN (2005), les tests de diagnostic sont couramment combinés en pratique et dans la recherche épidémiologique (stratégie de testage en série ou en parallèle) pour améliorer la prise de décision en maximisant les Se, les Sp et les VPP et/ou les VPN. Les nouvelles Se et Sp relatives attendues sont exprimées dans le tableau III.

**Tableau III: Sensibilité et spécificité de deux tests associés (PRAUD 2010).**

Dépendance conditionnelle	Tests en série	Test en parallèle
Sensibilité	Se1 * Se2	1 - (1 - Se1) * (1 - Se2)
Spécificité	1 - (1 - Sp1) * (1 - Sp2)	Sp1 * Sp2

Se1 et Se2 : sensibilités respectives des tests 1 et 2 ; Sp1 et Sp2 : spécificités respectives des tests 1 et 2.

## Chapitre II- RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1- Résultats

Les résultats obtenus par chaque test sont présentés dans le tableau IV suivant :

**Tableau IV: Résultats obtenus par chaque test**

Tests	ELISA	EAT	RT
Positifs (1)	4	12	37
Négatifs (0)	215	207	182
Total	219	219	219

#### II.1.1. Résultats bruts globaux des trois tests: ELISA, EAT et RT

Ils indiquent le détail des probabilités conditionnelles de survenue des combinaisons des résultats des trois tests effectués sur 219 vaches lactantes. Ces résultats bruts globaux des trois tests sont présentés dans le tableau V. Ainsi, 172 animaux ont été négatifs aux trois tests et 45 bovins ont été positifs à au moins un test. En revanche, aucun animal n'est positif aux trois tests. Le test sur le lait ou RT a révélé 32 Positifs qui sont négatifs au test de référence ELISA et à l'EAT. Ces résultats bruts indiquent que sur un même animal, les tests ont donné des résultats différents d'où une incertitude liée à la détection de la brucellose à partir de ces tests sérologiques.

**Tableau V: Résultats bruts globaux des trois tests**

Tests	RT	EAT	ELISA	Résultats bovins testés
Résultats	0	0	0	172
	0	0	1	0
	0	1	0	9
	1	0	0	32
	0	1	1	1
	1	0	1	3
	1	1	0	2
	1	1	1	0

RT : Ring test ; EAT : Epreuve de l'Antigène Tamponné et 0 : résultat négatif ; 1: résultat positif.

#### II.1.2. Tableaux de contingences

La confrontation des résultats entre le test à évaluer et le test de référence est en général présentée dans un tableau de contingence.

##### II.1.2.1. Résultats croisés aux deux tests l'EAT - l'ELISA

Sur les 219 animaux testés à l'EAT et à l'ELISA, 204 bovins (soit 93,15%) ont été négatifs aux deux tests, 1 seul bovin a été détecté vrai positif et 11 ont été faussement positifs (Tableau VI).

**Tableau VI: Tableau de contingence pour les bovins testés à l'ELISA et à l'EAT**

Test	ELISA(+)	ELISA (-)	Total
EAT (+)	1	11	12
EAT(-)	3	204	207
<b>Total</b>	4	215	219

EAT : Epreuve de l'Antigène Tamponné; (+) Positif et (-) Négatif.

### II.1.2.2. Résultats croisés entre le RT et l'ELISA

Les résultats croisés entre le RT et l'ELISA ont donné 181 bovins vrais négatifs, 1 seul faux négatif et sur les 37 positifs au RT, 3 sont de vrais positifs et 34 de faux positifs (Tableau VII).

**Tableau VII: Tableau de contingence pour les bovins testés à l'ELISA et RT**

Test	ELISA (+)	ELISA (-)	Total
RT (+)	3	34	37
RT(T-)	1	181	182
<b>Total</b>	4	215	219

RT : Ring Test; EAT: Epreuve de l'Antigène Tamponné; (+) Positif et (-) Négatif.

### II.1.2.3. Résultats croisés des deux tests traditionnels

Le tableau VIII montre que les résultats croisés entre le RT et l'EAT ont donné 182 vrais négatifs, mais plus de réactions douteuses (10 faux négatifs et 35 faux positifs).

**Tableau VIII: Résultats croisés entre le RT et l'EAT**

Test	EAT (+)	EAT(-)	Total
RT(+)	2	35	37
RT(-)	10	172	182
<b>Total</b>	12	207	219

RT: Ring Test; EAT: Epreuve de l'Antigène Tamponné; (+) Positif et (-) Négatif.

Les tableaux de contingences ont montré que le RT a donné un nombre important de faux positifs.

### II.1.3. Estimation de la prévalence relative, de l'agrément entre les trois tests et de l'indice de Youden

- Le tableau IX montre que sur l'ensemble des résultats, l'agrément entre le test de référence ELISA fait en Belgique et les deux tests habituels du Niger n'est pas bon (K inférieur à 0,5%). De surcroît, il y a encore moins de concordance entre les résultats des deux tests traditionnels (K inférieur à 0).
- Toutefois, l'ensemble des tests ont donné une prévalence vraie identique de 1,82% contre des prévalences apparentes individuelles variant de 5 à 16% (Tableau IX).
- L'indice de Youden indique que l'EAT a une faible efficacité d'orientation diagnostique (J proche de 0) par rapport au RT.

**Tableau IX: Résultats des prévalences relatives, coefficients Kappa et l'indice de Youden**

Tests	Prévalence Apparente	Prévalence Vraie	Coefficient Kappa	Index de Youden (IC 95%)
ELISA vs EAT	5,479 [2,465-8,494]	1,826 [0,053-3,600]	0,1	0,1988 [- 0,2265-0,6242]
ELISA vs RT	16,895 [11,932-21,858]	1,826 [0,053-3,600]	0,117	0,5919 [0,1647-1,000]

#### II.1.4. Mesure de la validité des tests

##### II.1.4.1. Validité intrinsèque: sensibilités (Se) et spécificités (Sp) relatives des tests

Le tableau X montre que les deux tests alternatifs habituels, le RT et l'EAT ont des sensibilités et spécificités relatives variables. Le RT (Se = 75%), plus sensible permet de mieux exclure la maladie si le résultat est négatif (moins de faux négatifs) que l'EAT. Cependant, sa faible spécificité indique qu'il risque de donner plus d'animaux faux positifs (sans aucune corrélation avec la brucellose). En revanche, l'utilisation de l'EAT est plus spécifique (94,88%) donc permet mieux d'affirmer la brucellose si le résultat est positif (peu de faux positifs).

**Tableau X: Caractéristiques des tests de dépistage de la brucellose bovine et leurs Intervalles de Confiance (IC 95%) par rapport au test de référence.**

Tests	Valeurs Moyennes et Intervalles de Confiance (IC 95%)			
	Se relative	Sp relative	VPP	VPN
ELISA vs RT	75,00 [32,56- 100]	84,18 [79,30-89,06]	8,10 [0,00-16,90]	99,45 [98,37-100,0]
ELISA vs EAT	25,00 [0,00-67,43]	94,88 [91,93-97,82]	8,33 [0,00-23,97]	98,55 [96,92-100,0]

Se : Sensibilité, Sp : Spécificité ; VPP : Valeur Prédictive Positive et VPN : Valeur Prédictive Négative, RT : Ring Test ; EAT : Epreuve de l'Antigène Tamponné ; IC : Intervalle de Confiance.

##### II.1.4.2. Validité extrinsèque des tests: Les valeurs prédictives

Les valeurs prédictives ou pouvoir de repérage d'une maladie sont utilisées lorsqu'on prend en compte les caractéristiques du test pendant le processus de prise de décision du diagnostic. Ces valeurs servent à statuer sur la confiance qu'il est possible d'accorder à un test qu'il soit positif ou négatif mais ne peuvent pas être utilisées pour comparer des tests.

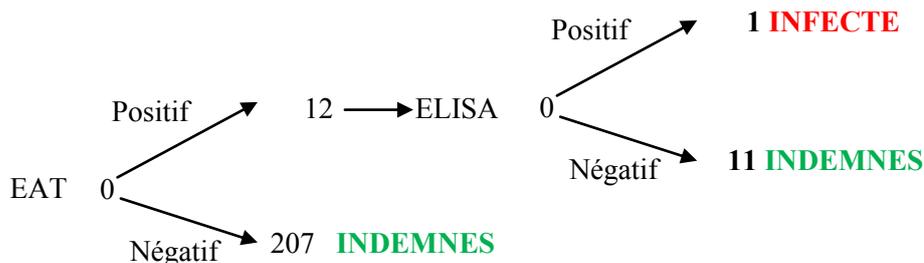
- Les valeurs prédictives positives (VPP) inscrites dans le tableau X ci-dessus, montrent que la probabilité qu'un bovin soit réellement infecté de brucellose sachant, qu'il a fourni un résultat positif à EAT ou au RT est faible et varie de 8,10% à 8,33% en fonction du test. Un résultat positif n'indique aucunement que le bovin est infecté par brucellose.
- En revanche, les valeurs prédictives négatives (VPN) de chacun de ces tests sont respectivement de 98,55% et 99,45%. Un résultat négatif à l'EAT ou au RT permettra d'exclure la brucellose avec confiance.

## II.1.5. Caractéristiques de l'association des tests

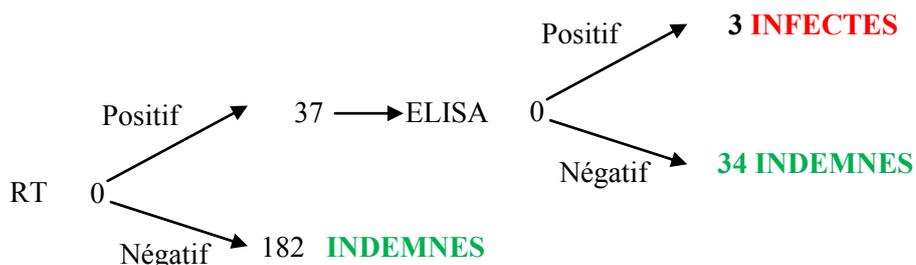
### II.1.5.1. Association en série

#### II.1.5.1.1. Arbre décisionnel du testage en série (schéma décisionnel « ET »)

Dans une association de tests en série, le sujet doit être trouvé positif à tous les tests pour être considéré comme positif, sinon il est considéré comme négatif. L'utilisation du EAT comme screening test et la confirmation des résultats avec l'ELISA a permis d'écartier 11 faux positifs et confirmer 1 seul vrai brucellique (figure 2). L'utilisation du RT puis de l'ELISA nous ramène à tester à nouveau 37 bovins pour obtenir 3 vrais positifs (figure 3).



**Figure 2: Association de EAT-ELISA en série (schéma décisionnel « ET »)**



**Figure 3: Association de RT-ELISA en série (schéma décisionnel « ET »)**

#### II.1.5.1.2. Valeurs intrinsèques relatives des tests en série

Cette stratégie de testage a permis d'améliorer les spécificités et les VPP des tests (tableau XI) mais les sensibilités sont faibles. Dans ce contexte, l'association des tests RT-ELISA est plus sensible et autant spécifique que le testage EAT-ELISA. Leurs spécificités de testage sont plus élevées que celle du test ELISA utilisé seul.

**Tableau XI: Sensibilité, Spécificité et Valeurs Prédicatives des tests de dépistage en série de la brucellose bovine (IC 95%).**

Tests	Valeurs Moyennes			
	Se	Sp	VPP	VPN
<b>ELISA vs RT</b>	72,29%	99,78%	85,95%	99,49%
<b>ELISA vs EAT</b>	24,10%	99,93%	86,31%	98,61%

#### II.1.5.1.3. Valeurs extrinsèques relatives des tests en série

Les VPP et VPN sont aussi nettement améliorées. Pour un résultat donné par ces deux types de testage, nous pouvons exclure la brucellose avec confiance et considérer avec certitude les résultats positifs.

## II.1.5.2. Association des tests en parallèle

### II.1.5.2.1. Arbre décisionnel du testage en parallèle (Schéma décisionnel «OU»)

Dans l'association en parallèle, le sujet qui est trouvé positif à, au moins, un des tests est automatiquement considéré comme positif. Tous les animaux sont testés à nouveau pour donner 15 infectés ou suspects avec le testage EAT-ELISA et 38 infectés ou suspects avec le RT- ELISA (figure 4 & 5). Le testage EAT-ELISA donne moins d'animaux infectés.

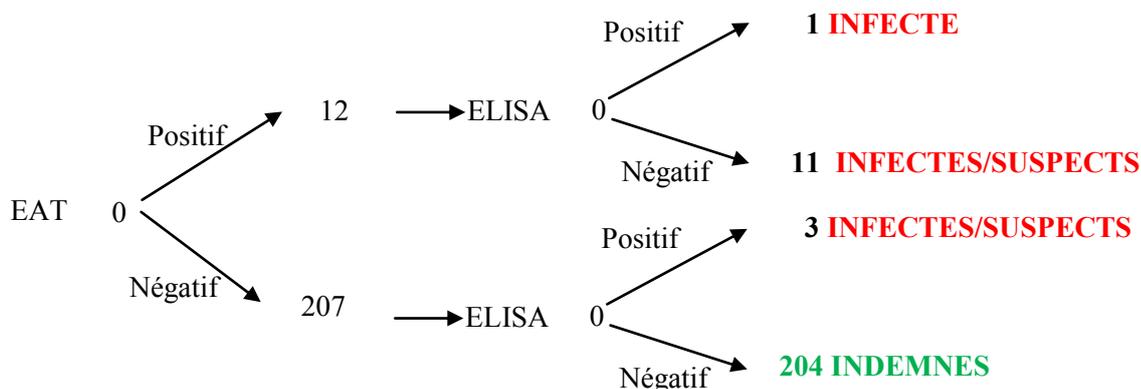


Figure 4: Association EAT- ELISA en parallèle (schéma décisionnel « OU »)

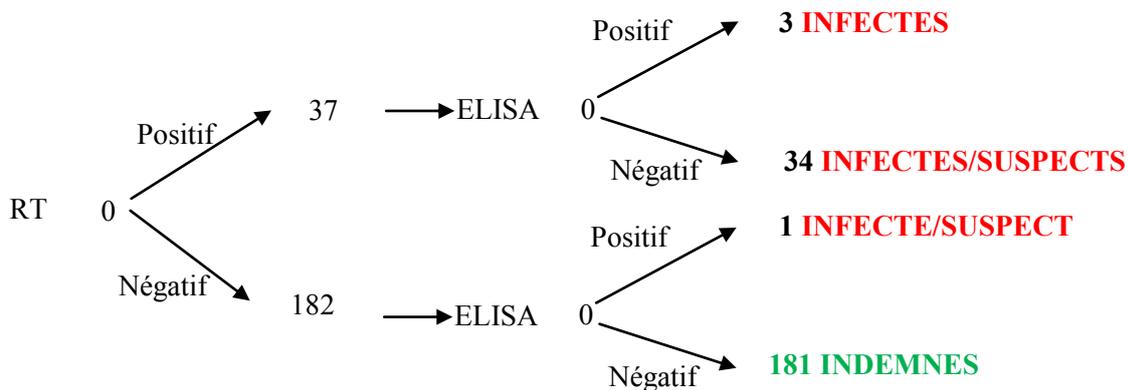


Figure 5: Association RT- ELISA en parallèle (schéma décisionnel « OU »)

### II.1.5.2.2. Valeurs intrinsèques relatives des tests en parallèle

Le tableau XII montre que cette stratégie de testage améliore les sensibilités ainsi que les VPN. Par contre, les spécificités restent stables et proches de celles obtenues avec les tests uniques. L'association en parallèle de l'EAT-ELISA donne la meilleure sensibilité et spécificité.

**Tableau XII: Sensibilité, Spécificité et Valeurs Prédictives des différents tests de dépistage en parallèle de la brucellose bovine et leurs Intervalles de Confiance (IC 95%).**

Tests	Valeurs Moyennes			
	Se	Sp	VPP	VPN
<b>ELISA vs RT</b>	99,10%	83,02 %	9,79%	99,98%
<b>ELISA vs EAT</b>	97,29%	93,57 %	21,95%	93,57%

Se: Sensibilité, Sp: Spécificité; VPP: Valeur Prédictive Positive et VPN: Valeur Prédictive Négative, RT: Ring Test; EAT: Epreuve de l'Antigène Tamponné; IC: Intervalle de Confiance.

#### **II.1.5.2.3. Valeurs extrinsèques relatives des tests en parallèle**

Le testage EAT- ELISA est plus spécifique et sa sensibilité est proche du testage RT-ELISA (tableau XII). A partir de la bonne VPN, les résultats négatifs pourront être considérés tels avec confiance mais la faible VPP obtenue peut amener à douter quand même si un bovin positif est réellement brucellique.

## **II.2. DISCUSSION**

### **II.2.1. Choix de l'échantillon**

Pour réaliser l'étude sur les caractéristiques de trois tests de dépistage de la brucellose qui est une maladie de la reproduction (avortement) l'espèce bovine a été retenue. Le lait de bovin est plus consommé au Niger. De surcroît, la prévalence de la brucellose est plus élevée chez les bovins. Les vaches en lactation sont retenues à cause de l'utilisation du RT qui se fait sur du lait. Pour une étude de caractéristique, la taille minimum est de 150 animaux (GRENIER et GARDNER 2000). Pour ces raisons, la taille de notre échantillon s'est limitée à 219 vaches. Ce choix est valable dans la mesure où cette étude ne nécessite pas un échantillon important puisqu'il ne s'agit pas de l'évaluation de la prévalence mais plutôt de la détermination des caractéristiques des tests et de la crédibilité des résultats générés (OIE, 2008).

### **II.2.2. Choix du test de référence**

La méthode de correction d'une référence imparfaite indiquée par PRAUD (2010) nous a permis de choisir l'ELISA comme le test de référence. Ce choix est réconforté par SAEGERMAN (2005) qui précise qu'il existe très peu de vrais « gold standard » en pratique, le test de référence est celui qui se rapproche le plus à la perfection. En plus d'être considéré comme le meilleur test utilisé dans les programmes de suivi et de contrôle de la brucellose (PERCY et *al.*, 1998), il permet de valider des résultats dans des conditions de contrôle de la qualité (ZINSSTAG, 2003).

### **II.2.3. Résultats**

Les caractéristiques de trois tests de dépistage de la brucellose des bovins laitiers dont un test considéré comme référence ont été étudiées ainsi que les stratégies d'association dans les sites laitiers urbains et péri urbains de la région de Niamey.

#### **II.2.3.1. Résultats bruts globaux**

Les résultats globaux obtenus montrent une différence entre les résultats obtenus par l'ELISA (4 positifs sur 219 vaches), l'EAT (12 positifs sur 219 vaches) et le RT (37 positifs sur 219 vaches). THYS et *al.* (2005) ont également obtenu des résultats bruts globaux très variés et parfois discordants lors d'une étude sur la brucellose bovine. BOUNAADJA (2010) précise que la négativité d'un seul test n'est pas suffisante pour exclure l'infection de façon certaine.

#### **II.2.3.2. Présence de réactions douteuses**

➤ Ces tests sont arrivés à détecter 78% de vrais négatifs et 15% de réactions faussement positives. Une infection préalable de l'animal avec d'autres agents opportunistes ayant des antigènes communs avec les *Brucella* peuvent entraîner des réactions croisées. Il s'agit principalement *Yersinia enterocolitica* O : 9 comme l'ont indiqué GALL et NIELSEN (2004) ou plus accessoirement *Xanthosoma maltophyla*,

*Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O : 1 *Escherichia hermannii*, *E. Coli* O : 157 ou *Salmonella urbana* O : 30 (GARIN-BASTUJI, 1999)

- L'incidence la plus élevée des résultats faussement positifs obtenus par le RT peut être due selon le Manuel de Diagnostic de la brucellose de la FAO (2008), à la formation d'un précipité sous forme d'anneau avec le colostrum contenant des globules gras ou avec du lait de mammité. Cela se justifie car ISSA (2005), a trouvé une importante prévalence globale des mammites (44%) dans le même cheptel laitier nigérien. Par ailleurs, KA et *al.* (2007) expliquent dans le même sens que le RT met en évidence, en plus des anticorps Ig G et Ig M sanguins ; des Ig A synthétisés localement contre l'infection de la glande mammaire.
- Les faux négatifs obtenus peuvent être des porteurs latents qui présentent une infection sub-clinique et dont le titre d'anticorps faible n'a pas pu être détecté. LEVIEUX (1974) explique qu'il n'est pas surprenant que certains animaux infectés en stade précoce soient exclus des réactions positives. Par ailleurs, les conditions de conservations des prélèvements entraîne leur détérioration et causer des faux négatifs.

### **II.2.3.3. Absence de l'agrément entre les trois tests et l'indice de Youden**

Le calcul du coefficient Kappa a indiqué une absence d'agrément. Cette discordance entre les trois tests peut être liée à la nature du matériel biologique étudié (lait et sérum), sa détérioration, aux erreurs de manipulation (contamination des sérums) ou de jugements (résultats intermédiaires ou non interprétables) des différents laboratoires.

L'indice de Youden indique que le RT a une bonne efficacité diagnostic. Ceci est surtout dû à sa forte sensibilité. Notons aussi que GEORGIADIS et *al.* (2003) ont donné une limite de l'indice de Youden comme dépendant des taux de positifs marginaux.

La prévalence individuelle réelle de 1,82% obtenue par les tests sérologiques de cette étude sur 219 bovins, est proche de celle trouvée par BOUKARY et *al.* (2013) sur plus de 5195 bovins (1,3%). Nos résultats confirment donc la fiabilité de nos tests et la représentativité de notre échantillon qui n'a pas influencé leurs performances.

### **II.2.3.4. Validité des tests**

#### **➤ Valeurs intrinsèques de l'EAT**

Il ressort que l'EAT est très peu sensible (25%) mais plus spécifique (94%) que le RT dans l'échantillon étudié. Nos résultats corroborent avec ceux de GALL et NIELSEN (2004) (RT: Se:89,5% et Sp:74,5% et EAT: Se:82% et Sp: 86,3%).

La Se de l'EAT obtenue est proche de celle de NIELSEN (2002) soit 21% tandis que la spécificité est supérieure soit 68,8% dans une étude sur l'estimation des caractéristiques de l'EAT pour la brucellose. Ses valeurs sont d'ailleurs très utilisées comme information à priori par d'autres travaux sur les caractéristiques des tests utilisant l'analyse bayésienne.

THYS et *al.* (2005) ont trouvé aussi une sensibilité de l'EAT de 78,12% (IC: 39,25% - 97,62) plus faible que celles des autres tests en zone forestière de la Côte d'Ivoire. Selon

GARDNER et *al.* (2000), cette faible sensibilité de L'EAT pourrait être attribuée à des facteurs biologiques (stade d'infection, altération des prélèvements), au non respect des principes de lecture.

#### ➤ **Les valeurs intrinsèques du RT**

Le RT a une sensibilité de 75% et une spécificité de 84%. Ces résultats sont légèrement proches de ceux de VANZINI et *al.* (2001) qui ont obtenu une Se de RT de 72% et une spécificité de 90% mais sur des chèvres.

#### ➤ **L'indication des tests sur le terrain**

- ✓ D'Après PRAUD (2010), en pratique, lors de la conception d'un protocole de testage reposant sur plusieurs tests, le choix d'une stratégie d'association et d'interprétation dépend de plusieurs facteurs dont: le contexte épidémiologique dans lequel le test est effectué, les moyens techniques et financiers dont disposent l'utilisateur.
- ✓ La surveillance et le contrôle de la brucellose bovine doit essentiellement reposer sur un dépistage rapide, facile et précis. En effet, en raison de la faible prévalence de la maladie, il n'y a pas lieu de recourir à la vaccination au risque d'entraver l'efficacité des tests de dépistage. BENKIRANE (2001) indique que la vaccination doit être prohibée et que la surveillance sérologique, dans cette situation, constitue un instrument performant. On pourra ainsi suivre, de manière régulière et précise, l'état de l'infection.
- ✓ Les tests habituels ont des sensibilités peu satisfaisantes (plus de faux négatifs) mais des spécificités plus ou moins satisfaisantes (94 % pour l'EAT) par rapport à celles de l'ELISA (98%). Nos résultats rejoignent ceux de PERCY et *al.* (1998) qui ont montré des qualités satisfaisantes de l'ELISA au regard des tests traditionnels de dépistage de la brucellose bovine. Néanmoins, ces tests traditionnels de terrain sont avant tout des tests qualitatifs, d'emplois faciles, rapides et abordables par rapport à l'ELISA. La contrainte de l'ELISA est que ce test est plus onéreux, il demande une chaîne de lecture ELISA au laboratoire et de l'expérience. De surcroît, l'un des principaux problèmes posés par le kit I-ELISA étudié dans les conditions d'interprétation prévues par le fabricant, est l'existence d'un intervalle de résultats douteux (entre 10% D.O. et 50% D.O.).
- ✓ La brucellose est une maladie contagieuse, chronique qui passe inaperçue et grave (économiquement et hygiéniquement) pour laquelle il est important d'utiliser à l'échelle du troupeau (lait de mélange) un test plus sensible afin d'éviter le plus possible des faux négatifs, même s'il y a des faux positifs. Dans le contexte d'éradication, le RT de par sa sensibilité passe rarement à côté des bovins infectés par *brucella Spp.*
- ✓ L'EAT quant-à lui, par sa bonne spécificité est recommandé pour la confirmation individuelle des positifs au RT, et les autres bovins du troupeau sur lesquels on ne peut prélever du lait. Sa faible sensibilité peut entraîner la survenue de résultats faussement négatifs et ralentir ainsi l'éradication de la maladie mais sa bonne VPP permet une certaine confiance.

Tout de même, pour la prise de décision sur le statut individuel, les VPP faibles et les VPN élevées, nous interpellent à douter des résultats positifs que peuvent donner les deux tests habituels.

#### ➤ **L'importance des valeurs prédictives**

L'ELISA, l'EAT et le RT s'avèrent avoir des VPP faibles et très proches (8,10 à 8,33) mais des VPN élevées. Ces résultats s'expliquent par le nombre important de faux positifs qui sont apparus. SIBILLE (2006), dans une étude épidémiologique sur la brucellose bovine a également trouvé que la VPP diminuait lorsque la prévalence est faible comme celle de notre échantillon (Prévalence réelle =1,82).

#### **II.2.3.5. Choix des stratégies de testage**

- La Sp de la stratégie en série est meilleure que la Sp de l'ELISA. Ce qui est contraire aux opinions de GALL et NIELSEN (2004) qui rapportent que la Sp de l'ELISA est plus élevée que la Sp d'une association de tests. Les variations observées peuvent être dues à l'échantillon, au type de kit ELISA utilisé et du stade de l'infection de l'animal.
- On peut obtenir un bon résultat avec le dépistage du troupeau par l'association en série RT-ELISA qui génère peu de faux négatifs (plus sensible) et autant de faux positifs que l'EAT-ELISA. Les coûts de prélèvements du lait pour le RT semblent moins élevés que le sérum et l'éleveur peut s'acquitter de cette tâche. Les coûts d'abattages sont également supportables par le Niger. Ce choix est aussi appliqué par la France dans le cadre du maintien de la vigilance contre cette maladie (RAUTURAU et *al.*, 2011).
- L'utilisation de l'EAT-ELISA est fastidieuse quand il s'agit de la réalisation et la conservation des prélèvements sanguins. Néanmoins, elle reste plus intéressante à cause de la bonne spécificité de l'EAT qui donne moins d'animaux à tester à nouveau d'où l'économie de tests.
- Par contre, en raison de la faible Sp et la faible VPP du protocole de testage ELISA-EAT en parallèle, il est indiqué seulement en cas de déclaration d'un foyer. En effet, selon SMITH (1992), cité par PRAUD (2010), la diminution de la VPP des tests, lorsque la prévalence de la maladie dépistée diminue pose un problème crucial dans les programmes de lutte contre les maladies infectieuses et entrave le bon déroulement de la fin de l'éradication de ces maladies, surtout en raison de l'augmentation de la proportion de résultats faussement positifs parmi les résultats positifs.

### **III. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES**

#### **III.1. Evaluation des stratégies décisionnelles**

La brucellose ne fait pas partie des maladies prioritaires au Niger pour lesquelles des vaccinations annuelles systématiques sont entreprises. Le but de ce dernier sous-chapitre est de réaliser une évaluation comparative des stratégies de maîtrise de la maladie par dépistage, suivi ou non d'un abattage dans le bassin laitier du Niger où la prévalence individuelle est faible. Parmi les tests habituellement utilisés, aucun ne s'avère efficace lorsqu'il est utilisé seul. En effet, les risques économiques que peuvent engendrer la considération des faux positifs et le risque sanitaire que présente les faux négatifs montrent ainsi la nécessité de les associer entre eux ou à d'autres tests pour une prise de décision sanitaire adéquate.

Selon les résultats obtenus, nous avons considéré les deux meilleures possibilités de combinaison : ELISA vs EAT et ELISA vs RT. Le principe suivi est l'utilisation d'un test peu spécifique facile à réaliser (même par l'éleveur) pour le dépistage et/ou un autre plus spécifique pour la confirmation au laboratoire. Le choix se fera selon que le meilleur test de dépistage est celui qui offre un bon compromis entre la sensibilité élevée (pour détecter le plus grand nombre de bovins suspects) et la spécificité élevée (pour éviter un deuxième test inutile chez les bovins non malades). Le programme est proposé sous forme d'arbre décisionnel.

##### **III.1.1. Choix du testage en série**

La considération de nos résultats en série prête l'avantage d'améliorer la spécificité du protocole et d'avoir ainsi la réduction de réactions faussement positives. Les abattages à tort sont limités. Le test de confirmation ne se fait que si l'animal est positif à un des tests d'où une économie de tests si l'animal est négatif. Son inconvénient majeur est sa faible sensibilité entraînant la présence de faux négatifs, le report de la réalisation du second test et la confirmation tardive.

Deux associations sont utilisées en fonction de l'unité épidémiologique considérée.

- L'utilisation du RT-ELISA est le plus recommandé pour le dépistage troupeau des vaches lactantes car le protocole est plus sensible et autant spécifique que le testage EAT-ELISA. Cette stratégie prête l'avantage d'être faite même dans le cadre d'un dépistage de routine par l'éleveur, puis la confirmation des bovins infectés par ELISA qui est plus spécifique. L'utilisation de l'EAT-ELISA peut se faire sur les veaux des vaches laitières suspectées et sur les bovins non laitiers. La confirmation des résultats positifs se fera par l'ELISA. Cette stratégie peut demander plus d'effort quand il s'agit de la réalisation et la conservation des prélèvements sanguins mais reste plus intéressante à cause de la bonne spécificité de l'EAT qui donne moins d'animaux à tester à nouveau d'où une économie de tests. A partir des VPP et VPN élevées obtenues, ce protocole est suggéré pour:
  - Des animaux nouvellement introduits dans une exploitation;
  - La mise en œuvre des programmes de suivi et de contrôle réguliers de la brucellose à l'échelle collective;
  - La confirmation d'un diagnostic de laboratoire afin de statuer sur le devenir (abattage ou non) de l'animal ayant été observé positif dans le cheptel.

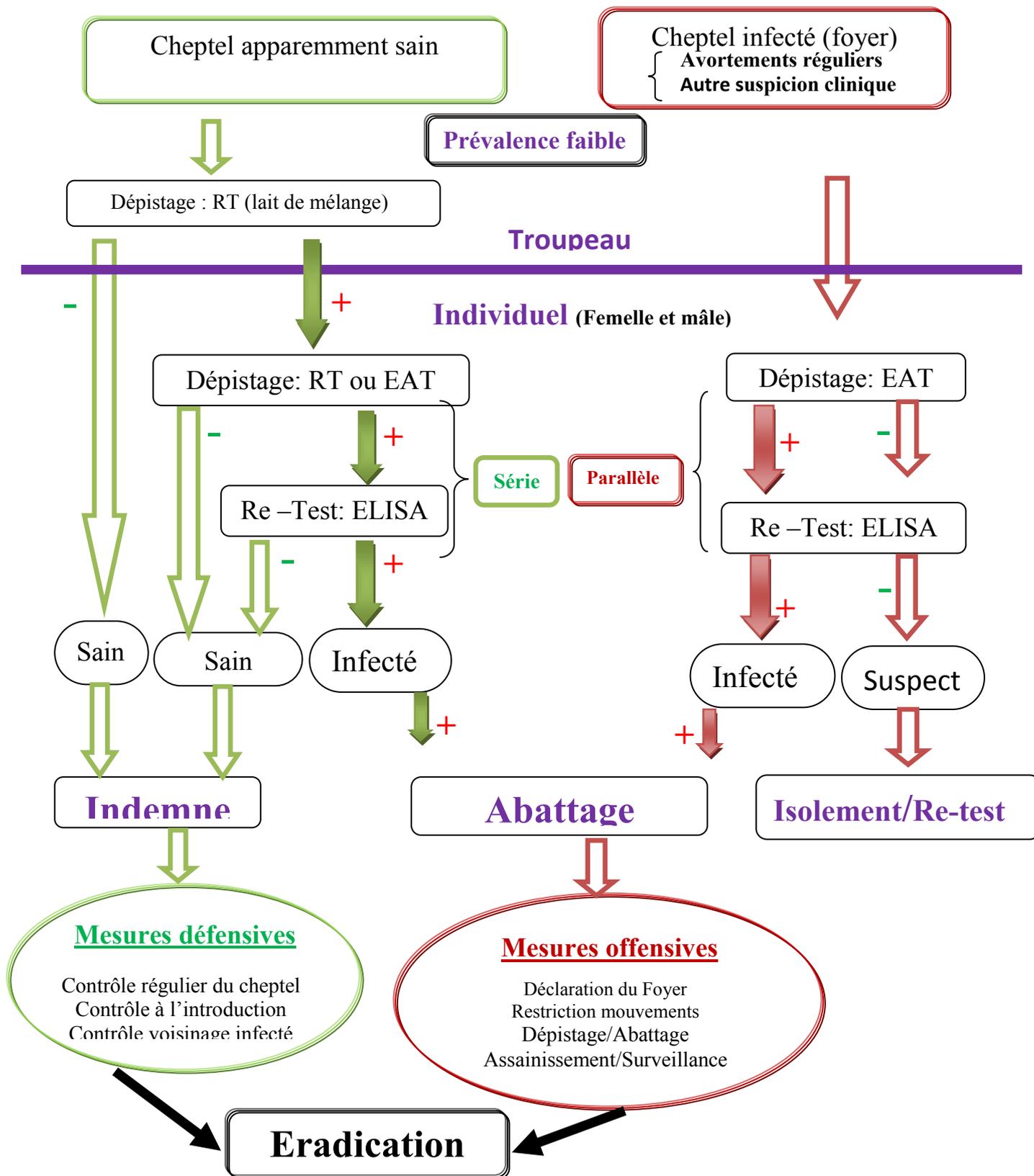
### III.1.2. Choix du testage en parallèle

Le dépistage en parallèle a amélioré la sensibilité du protocole réduisant ainsi la survenue des faux négatifs. Il est conseillé surtout lorsqu'il est dangereux de ne pas retrouver les infectés et qu'on souhaite détecter la majorité des infectés surtout lorsqu'un foyer se déclare afin d'accélérer l'éradication. Les animaux obtenant un résultat positif à l'un ou l'autre des deux tests devraient être abattus et remplacés par des animaux jeunes, n'ayant pas débuté leur activité sexuelle et provenant de troupeaux indemnes de la brucellose. La bonne VPN permet d'exclure avec confiance les bovins négatifs aux deux tests mais ils sont conservés dans le troupeau puis régulièrement testés jusqu'à assainissement complet du cheptel. Cette stratégie peut être intéressante à cause des résultats immédiats qu'elle offre, mais pose toutefois un problème économique majeur en raison des coûts engendrés lorsqu'il s'agit de réaliser en même temps deux tests sur tous les animaux. De surcroît, les VPP faibles amènent à supposer à tort les animaux indemnes (comme dans notre étude) engendrant ainsi des abattages d'un nombre important d'animaux.

Le protocole de testage EAT – ELISA est le seul à envisager à cause de :

- L'urgence de l'intervention en cas de foyer;
- La meilleure spécificité et sensibilité qu'offre le protocole EAT- ELISA ;
- La bonne spécificité de l'EAT utilisé en première intention;
- Les raisons économiques: le RT est réputé donner plus de faux positifs engendrant des coûts d'abattage et indemnisation élevés.

Pour évaluer ce programme proposé sous forme d'arbre décisionnel (figure 6), il faudra tenir compte de dépenses engagées (dépenses de diagnostic et les dépenses complémentaires d'abattage et éradication) et les avantages (lait de bonne qualité, diminution de la contamination de l'Homme et de l'animal ; diminution des avortements, des stérilités, de la morbidité et augmentation des naissances, amélioration génétique, augmentation des importations) pendant la lutte et après la lutte.



**Figure 6:** Programme de contrôle et d'éradication de la brucellose bovine dans les cheptels laitiers. RT: Ring Test, EAT: Epreuve à l'Antigène tamponné; ELISA;

**Légende :** (+): positif, (-): négatif → Animal Indemne (Série) → Animal Suspect (parallèle) → Animal infecté (Série) → Animal infecté (parallèle)

## CONCLUSION

Le travail entrepris a permis de montrer que les tests de dépistage sérologiques sont des outils indispensables pour la prise de décisions sanitaires dans la lutte contre la brucellose. En effet, cette maladie revêt un enjeu particulier car les risques économiques et sanitaires sont énormes pour la filière laitière de Niamey qui est une filière jeune, dynamique et principal pourvoyeur de lait et produits laitiers de la capitale nigérienne. Les outils de dépistage et de diagnostic font partie intégrante de la lutte contre les maladies réglementées, autant dans une optique offensive que dans une optique défensive. L'estimation des risques d'erreur des trois tests et de leurs associations ont permis d'élaborer un programme de contrôle et d'éradication en zone de faible prévalence

Les tests traditionnels EAT et RT ont des caractéristiques intrinsèques plus ou moins acceptables. Pendant que, le RT peut être un test de choix à l'échelle du troupeau, l'EAT l'est à l'échelle individuelle. L'ELISA peut servir de test de confirmation. Les tests qualitatifs de terrain associés à l'ELISA paraissent assez intéressants du point de vue technique et économique, pour un objectif d'éradication en fonction des infrastructures et des réalités économiques et politiques du pays. Dans le processus d'éradication de la brucellose, l'association en série RT-ELISA ou EAT-ELISA peuvent s'utiliser dans les programmes de dépistages individuels réguliers car elle prête l'avantage d'améliorer la spécificité du programme afin de limiter les faux positifs. L'association en parallèle EAT- ELISA s'appliquera pour une éradication rapide en cas de foyer compte tenue du bon compromis entre la Se et la Sp qu'elle offre.

Tout de même, les autorités compétentes dans leur prise de décision ont le devoir d'intégrer les valeurs prédictives.

Le succès de ces programmes dépendra aussi bien des moyens investis que de la réalité de leur application. Ces stratégies de testages constituent le seul moyen de rationaliser les décisions et les dépenses engendrées par la lutte vers l'éradication de la brucellose au Niger où la prévalence est faible. Pour se faire, les acteurs de la filière laitière doivent être sensibilisés sur l'importance de cette maladie et mis à contribution. L'état doit s'engager dans les indemnisations pour une lutte efficace. Enfin, d'autres tests peuvent être aussi évalués en perspective d'utilisation sur les bovins et les petits ruminants. Ce sont : l'ELISA sur le lait ou la PCR.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AKAKPO A.J., SALEY M., BORNAREL P., ET SARRADIN P., 1986.** Epidémiologie de la brucellose en Afrique tropicale : Analyse sérologique et identification des deux premières souches de *Brucella abortus* biotype 3 au Niger *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, **4(2)** : 265.
2. **AKAKPO, A.J, NDOUR, A.N.P, 2013.** La brucellose bovine en Afrique de l'ouest et du centre : état des lieux. *RASPA Vol.11 NOS*.
3. **ALI M., 1881.** Enquête sérologique de la brucellose animale au Niger. Rapport ronéotypé.- Niamey I.N.R.A.N.
4. **ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D., VERGER J.M., 1988.** Techniques for the brucellosis laboratory.- Paris, INRA.- 190 p.
5. **BENKIRANE A., 2001.** Surveillance épidémiologique et prophylaxie de la brucellose des ruminants : Exemple de la région de l'Afrique du Nord et Proche –Orient. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **20 (3)**:757-767.
6. **BLOCH N. et DIALLO I., 1991.** Enquête sérologique et allergologique de la brucellose sur les bovins au Niger. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **44(2)** : 117-122.
7. **BONFOH B., FANE A., TRAORE A.P., et al., 2002.** Use of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in fermented cow milk. *Milchwissenschaft* **57(7)** : 361-420.
8. **BOUKARY A., SAEGERMAN C., ABATIH E., et al., 2013.** Seroprevalence and potential risk factors for *Brucella abortus* biovar 3 infections in traditional cattle, sheep and goats reared in urban, periurban and rural areas of Niger. *Plosone.02934087*: ref :00 DUOIfis.50049àckk.
9. **BOUNAADJA L., 2010.** Développement d'une PCR en temps réel pour la détection des *Brucella* et relation avec le genre *Ochrobactrum*. *Thèse : Biol.Org.: Université de Maine.*
10. **EI IDRISSE A.H., BENKIRANE A., MAADOUDI M.E. et al., 2001.** Efficacité comparée des vaccins à Souches vivantes RB51 de *Brucella abortus* et Rev1 de *Brucella melitensis* contre une infection expérimentale chez des brebis gravides *Rev.scient. Tech. Off. Int. Epiz*, **20(3)**:741-747.
11. **FOSTER G., OSTERMAN B.S., GODFROID J., et al., 2007.** *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. For *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol.* **57(Pt 11)** : 2688-2693.
12. **GALL D. et NIELSEN K., 2004.** Comparaison des méthodes sérologiques de diagnostic de la brucellose bovine en termes de performances et de coûts: Numéro pluri thématique de la revue scientifique et technique. *Off.Int.Epiz*, 2004, **23(3)** : 989-1002.
13. **GARDNER I.A., STRYHN H., LIND P. et COLLINS M.T., 2000.** Conditional dependence between tests affects the diagnosis and surveillance of animal disease. *Preventive Veterinary Medicine*, **45**: 107-122.
14. **GARIN-BASTUJI, B., 1993.** Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés. Le cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. *Point. Vet.* **25 (152)**, 115–124.
15. **GEORGIADIS M.P., JOHNSON W.O., SINGH R. et GARDNER I.A., 2003.** Correlation-adjusted estimation of sensitivity and specificity of two diagnostic tests. *Applied Statistics*, **52**: 63-78.
16. **GIDEL A., ALBERT R., J.P le MAO. et RETIF M., 1974.** La brucellose en Afrique Occidentale et son incidence sur la santé publique. Résultats de dix enquêtes épidémiologiques effectuées en Cote d'Ivoire, Haute Volta, Niger de 1970 à 1973. *Rev. Elev.Méd Vét. Pays. Trop.***27** :403-418.

17. **GOOFROID J., CLOECKAERT A., LIACETARD J.P. et al., 2005.** From the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been re-emerging zoonoses. *Veterinary Research*, **36**:313-326.
18. **GREINER M. et GARDNER I.A., 2000.** Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine*, **45**: 3-22.
19. **HAROUNA A.H., 2008.** Contribution à l'étude épidémiologique de la Brucellose dans les élevages laitiers urbains et périurbains de Niamey (Niger):*Thèse :Méd.Vét : Dakar ;34.*
20. **HUBÁLEK Z., SCHOLZ HC., SEDLÁČEK I. et al., 2008.** Brucellosis of the common vole (*Microtus arvalis*). *Vector Borne Zoonotic Dis. Winter*. **7**(4) : 679-687.
21. **ISSA A., 2005.** Etude étiologique des mammites subcliniques dans les élevages bovins laitiers périurbains et urbains de Niamey (Niger). Thèse : Méd.Vét : Dakar ; 27.
22. **KUMAR S., TUTEJA U. et BATRA HV., 2007.** Generation and Characterization of Murine Monoclonal Antibodies to Recombinant 26-kDa Periplasmic Protein of *Brucella abortus*. *Hybridoma*. **26**(5), 322-327.
23. **LIMET JN., KERKHOFS P., WIJFFELS R. et DEKEYSER P. (1988)** Le diagnostic sérologique de la brucellose bovine par ELISA. *Ann Méd Vét* **132**: 565-575.
24. **MANGEN M.J., OTTE J., PFEIFFER D. et CHILONDA P., 2002.** Bovine brucellosis in Sub-Saharan Africa: estimation of seroprevalence and impact of meat and milk offtable potential Food and Agriculture Organ Livestock Information and Policy Branch, AGAL.- Rome: FAO.- 52p.
25. **MAURIN M., 2005.** La brucellose à l'aube du 21e siècle. *Med. Mal. Infect.*, **35**, 6-16.
26. **MEMISH Z.A. et BALKHY H.H., 2004.** Brucellosis and international travel. *J.Travel Med*. **11** :49-55.
27. **NIGER., Ministère des Ressources Animales, 1997.** Rapport Annuel.
28. **NIGER., Ministère des Ressources Animales, 2013.** Rapport Annuel.
29. **OIE, 2008.** Norme de qualité et lignes directrices de l'OIE applicables aux laboratoires vétérinaires: maladies infectieuses. 2eme ed.-Paris: OIE.-72p.
30. **OMS, 2004.** Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.-13<sup>ème</sup> édition, Paris: OIE.-345p.
31. **OUEDRAOGO M., 2001.** Epidémiologie de la brucellose bovine : Modèle Bayésien de prédilection de la prévalence sur la base de tests combinés. Mémoire : Sciences de santé animale tropicale : Anvers, Institut Médecine Tropicale Prince Léopold.
32. **PALANDUZ A., PALANDUZ S., GULER K. et GULER N., 2000.** Brucellosis in a mother and her young infant: probable transmission by breast milk. *Int. J. Infect. Dis.*, **4**:55-56.
33. **PAPPAS G., PAPADIMITRIOU P., AKRITIDIS N. et al., 2006.** The new global map of human brucellosis. *Lancet. Infect. Dis.*, **6**(2) :91-99.
34. **PERCY A., GAUTIER D., LECOINTRE O. et CREVAT D., 1998.** Diagnostic sérologique de la brucellose bovine. Evaluation Comparative d'une méthode ELISA et des Méthodes traditionnelles. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **149**(2) : 161- 168.
35. **PILLY E., 1993.** Maladies infectieuses. Montmorency : *APPIT*.- 671p.
36. **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:*Thèse : Méd.Vét : Paris Sud XI.*
37. **PROBERT W.S., SCHRADER K.N., KHUONG N.Y., et al., 2004.** Real-time multiplex PCR assay for detection of *Brucella* spp., *B. abortus*, and *B. melitensis*. *J. Clin. Microbiol.*, **42** : 1290–1293.
38. **RAMBE B., 1981.** Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose humaine au Niger. Thèse: Méd : Université Niamey.

- 39. RENU-KARADHYA G.J., ISLOOR S., GROWTHER J.R. et al., 2001.** Développement et validation sur le terrain d'une épreuve immuno enzymatique à l'avidine biotine pour le diagnostic de la brucellose bovine. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **20**(3):749-756.
- 40. RIVERA A. D.Y., RUEDA O.E., CALDERON C. et al, 2003.** Evaluation comparative de la méthode immuno enzymatique indirecte sur le lait pour une détection des bovins infectés par *Brucella abortus*, dans des cheptels du département de Cundinamarca, Colombie. *Rev. sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **22** (3): 1065-1075.
- 41. RUBEN B., BAND J.D., WONG P. et COLVILLE J., 1991.** La transmission humaine de *Brucella melitensis*. *Scient. Inf. Dis* ; **21** : 283-289
- 42. SALEY M., 1983.** Contribution à l'étude des brucelloses au Niger. Thèse : Méd. Vét : Dakar ; **6**.
- 43. SCHOLZ HC., NÖCKLER K., GÖLLNER C., BAHN P., et al., 2009.** *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* [Epub ahead of print].
- 44. SHEY NJILA O., 2005.** Sero-epidemiological study of bovine brucellosis in the region of Dschang (West Cameroon). Mémoire Sciences de santé animale tropicale : Anvers, Institut Médecine Tropicale Prince Léopold.
- 45. SIBILLE C. M., 2006.** Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Harkangai (Mongolie). *Université Paul-Sabatier de Toulouse – TOU 3* – 4124.
- 46. THYS E., YAHAYA M.A., WALRAVENS K. et al., (2005).** Etude de la prévalence de la brucellose bovine en zone forestière de la Côte d'Ivoire. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.* **58** (4) : 205-209.
- 47. TOMA B., DUFOUR B., BÉNET J.J., SANAA M., SHAW A., MOUTOU F., 2010.** Epidémiologie appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures, 3ème éd. Maisons-Alfort : AEEMA, 600 p.
- 48. VIAS F.G. ; GARBA M. ; YEROU S., 2006.** Analyse de la consommation du lait au Niger. Atelier régional Bamako, du 29 Mai au 2 juin 2006. *REPOL*.
- 49. YANAGI M. et YAMASATO K., 1993.** Phylogenetic analysis of the family *Rhizobiaceae* and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and DNA sequencer. *FEMS Microbiol. Lett.* **107**:115–120.
- 50. YAOU M., 2006.** Identification des risques de pathogènes dans la chaîne de production du lait cru dans la Communauté Urbaine de Niamey. Mémoire : Technicien supérieur de laboratoire : Niamey, ENSP.
- 51. ZINSSTAG J., ROTH F., SCHELING E. et BONFOH B., 2003.** Economie de lutte contre la Brucellose et ses applications pour l'Afrique : *études et recherches sahéliennes (8-9)* : 51.

#### **WEBOGRAPHIE:**

- 52. DEAN A.S., BONFOH B., KULO A.E. et al., 2013.** Epidemiology of brucellosis and Q Fever in linked human and Animal Populations in Northern Togo. Plos one: e71501..www.plosone.org. Consulté le 20/02/2014).
- 53. FAO., 2008.** Diagnostic de la brucellose [en ligne] : Accès Internet : <ftp://ftp.fao.org/unfao/bodies/fc/fc128/k5381f>. (Consulté le 05/03/2014).
- 54. KA A.R, GHAZI Y.A. et SALAMA E.M., 2007.** Surveillance de *Brucella* réacteur ne après examen de lait en utilisant différentes techniques. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**: 240-244 [en ligne] : Accès Internet : <http://scialert.net/fulltext/?doi=pjbs.2007.240.244>. (Consulté le 20/02/2014).

- 55. LEVIEUX D., 1974.** Activité des IgG1, IgG2 et IgM du sérum dans les réactions d'agglutination de Combs, de fixation du complément et dans le test de Rose Bengale. Ig Bovins et Brucellose *Ann.Rech.Vétér.* **5**(3), 343-353/ [en ligne]: Accès Internet : <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/90/08/12/PDF/hal-00900812.pdf>. (Consultée le 21/02/2014).
- 56. NIELSEN K., 2002.** Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol.*, 90p [en ligne] : Accès Internet : <http://manu.edu.mk/prilozi/4kn.pdf>.(Consulté le 20/02/2014).
- 57. SAEGERMAN C., 2005.** Epidémiologie des événements rares chez les bovins en Belgique. Thèse Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège 4000 Liège (Belgique) [en ligne] : Accès Internet : [www.dmipfmv.ulg.ac.be/epidemiovet/These%20Saegerman.\(Consulté le 20/01/2014\)](http://www.dmipfmv.ulg.ac.be/epidemiovet/These%20Saegerman.(Consulté%20le%2001/2014).).
- 58. SAEGERMAN., C., 2007.** Brucellose Master of Science en Santé Animale Tropicale Module<<Contrôle des maladies infectieuses>> Liège : ULg. 13p.
- 59. ROTUREAU S., BARBARA D. et GARIN-BASTUJI B., 2011.** Maintenir la vigilance contre la brucellose bovine en France. Bulletin épidémiologique Anses, laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort, France [en ligne] : Accès Internet: <https://pro.anses.fr/bulletin-epidemiologique/Documents/BEP-mg-BE54-art2.pdf>. (Consulté le 24 Mars 2014).
- 60. VANZINI V.R., AGUIRRE N.P., VALENTINI B.S., et al., 2001.** Comparaison de l'ELISA indirect avec le test à l'anneau pour la détection des anticorps de *Brucella abortus* dans les échantillons de lait en vrac; microbiologie vétérinaire, vol. 82, No1, pp. 55-60. [en ligne] : Accès Internet <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=14162768>. (Consulté le 22/02/2014).
- 61. OIE, 2009.** Bovine brucellosis. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 586 Paris, France, pp. 1-35. [en ligne] : Accès Internet : [http://www.oie.int/fileadmin/home/eng/health\\_standards/tahm/2.04.03\\_bovine\\_brucell.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/home/eng/health_standards/tahm/2.04.03_bovine_brucell.pdf). (Consulté le 11/01/2014).
- 62. OIE, 2005:** Santé publique vétérinaire : Tendances futures. Rapport sur les réunions d'experts et groupes d'études [en ligne]: Accès Internet: [http://www.WHO.int/gb/ebwha/pdf\\_files/EB\\_111/feb11128.pdf](http://www.WHO.int/gb/ebwha/pdf_files/EB_111/feb11128.pdf) (page consultée le 12 Février 2008)

**Titre : Evaluation de trois tests de dépistage de la brucellose bovine pour une aide décisionnelle de contrôle de la maladie dans le bassin laitier de Niamey (Niger)**

**Title: Evaluation of three tests of brucellosis for decision-aid control of disease in the basin of dairy Niamey (Niger)**

**RESUME**

La filière laitière du Niger est une filière jeune, dynamique qui fait face à plusieurs contraintes sanitaires et économiques dont la brucellose. La faible prévalence et le caractère enzootique doivent amener le pays à penser à l'étape d'éradication. Sa réussite dépendra d'un dépistage rapide et précis.

Une étude sur les caractéristiques de trois tests de dépistage et des stratégies décisionnelles de lutte contre la brucellose dans le bassin laitier de Niamey (Niger) a été menée. Elle a porté sur un échantillon de 127 vaches de 9 sites urbains et 92 vaches de 4 sites périurbains soit 219 vaches en lactation. Chacun de ces bovins à prédominance Djeli, Azaouak et Bororo ont été testés à partir d'un test de référence d'ELISA et deux tests traditionnels qualitatifs, l'EAT sur du sérum et le RT sur du lait. Les résultats globaux obtenus montrent une différence significative entre les résultats positifs obtenus par l'ELISA (4/219), l'EAT (12/219) et le RT (37/219). Il ressort que, le RT est plus sensible (Se: 75%, Sp: 84%) mais peu spécifique que l'EAT (Se: 25% et Sp:94%).

Les associations en série des tests RT-ELISA ou EAT-ELISA améliorent la Sp et la VPP de 99%, réduisant le risque de faux positifs. L'association en parallèle surtout l'EAT-ELISA donne des Se, Sp et des VPN satisfaisantes réduisant ainsi, le risque d'obtenir des faux négatifs.

La prise en compte de l'évaluation des tests a permis l'élaboration d'un schéma décisionnel selon les réalités socio-économiques du Niger. Le RT paraît intéressant pour le dépistage du troupeau laitier et l'EAT pour le dépistage individuel sur les bovins laitiers ou non. Selon les réalités du Niger, ces tests présentent des avantages techniques (terrain, qualitatifs, faciles, rapides) et économiques. L'association en série est adaptée à la mise en œuvre d'un programme de dépistage systématique régulier à l'échelle individuelle. Par contre, l'association en parallèle est adaptée seulement en cas d'émergence d'un foyer.

**MOTS – CLES** : laitier –bovin– Dépistage – Brucellose –Test – Eradication-Stratégie

Auteur : Dr Halimatou ADAMOU HAROUNA

E-mail: [ahalimatou2@yahoo.fr](mailto:ahalimatou2@yahoo.fr)

Tel: (00227) 96 51 92 42/ 94.97.01.30

Adresse: Koira kano, Ny/Niger

**ABSTRACT**

The dairy sector of Niger is a dynamic young industry which faces several health and economic constraints. One of the most important is brucellosis. The low prevalence and enzootic character should lead the country to think about eradication. Its success will depend on fast and accurate screening tests.

A sample of 219 dairy cows was selected from 13 urban and suburban sites. The tests used consisted of ELISA test which we considered as gold standard and two traditional qualitative tests, EAT on serum and RT on milk. The results show that the RT is more sensitive (Se 75%, Sp: 84%) but less specific than EAT (Se 25% and Sp: 94%).

Thus, based on the intrinsic characteristics of each test, RT seems to be interesting to be used as first-line test of dairy herd and EAT as individual testing on dairy cows or not. According to the realities of Niger, these tests present technical advantages (practice on field, qualitative, easy, fast) and economic.

Thus, the association of tests in series of RT-ELISA or EAT-ELISA improves Sp and VPP (Positive predictive value) of 99%, reducing the risk of false positives. They are suitable for the implementation of regular systematic screening test according to socio-economic realities of Niger. The parallel combination especially EAT-ELISA gives Se, Sp and satisfactory VPN (Negative predictive value) thus reducing the risk of false negatives. Due to high costs generated by the screening test, stamping out and low VPP (Positive predictive value), it can be adopted only in case of outbreak emergency.

**KEY - WORDS**: dairy - cow – Screening test - brucellosis – Eradication

Author : Dr Halimatou ADAMOU HAROUNA

E-mail: [ahalimatou2@yahoo.fr](mailto:ahalimatou2@yahoo.fr)

Tel: (00227) 96 51 92 42/94.97.01.30

Adresse: Koira Kano, Ny/Niger