

BRUCELLOSE

■ Epidémiologie

ETIOLOGIE :

- o L'agent principal est *Brucella melitensis*, les biovar 1, 2 et 3 sont représentés, le biovar 3 étant le plus fréquent en France. On observe néanmoins quelques cas à *B. abortus*.
- o coccobacille gram -

TRANSMISSION :

- o directe ou indirecte
- o oronasale ou respiratoire, verticale possible (colostrum)
- o excrétion dans les produits d'avortement, le lait, le sperme, les sécrétions vaginales.
- o Le mâle peut jouer un rôle important dans la persistance et la diffusion de la maladie.
- o L'infection s'étend dans les troupeaux à deux périodes préférentielles : l'époque de la lutte (rôle des béliers et boucs) et la période des mises bas.

ESPECES AFFECTEES :

- o Ovins, caprins, bovins, canins

REPARTITION GEOGRAPHIQUE:

- o Elle se calque sur la répartition des élevages ovins. L'Australie, la Nouvelle Zélande ou la République Sud-africaine sont indemnes. Au sein de l'UE, la maladie sévit à l'état enzootique en Grèce, en Italie, au Portugal, en Espagne et en France (pourtour méditerranéen notamment).
- o Le biovar 1 prédomine dans le nord, le biovar 3 dans le sud, le biovar 2 ne se retrouve pas en France.
- o 17 départements français sont indemnes

INCUBATION :

- o De 14 jours à 6 mois

■ Symptômes

- o Une proportion importante des brebis aurait tendance à l'autostérilisation dans un délai de 6 mois à 1 an, en période de repos sexuel.
- o L'atteinte génitale est la forme la plus courante :

- femelle:
 - Les avortements dans les deux derniers mois de gestation touchent 50 à 90% des brebis la 1^o année et environ 10% la seconde. L'avortement ne survient habituellement qu'une fois, cependant à chaque gestation, la bactérie envahit l'utérus et se trouve excrétée dans les fluides foeto-maternels.
 - La chèvre reste porteuse toute sa vie, des avortements à répétition peuvent être notés dans le troisième tiers de gestation.
 - Ces avortements peuvent être suivis de métrite ou de rétention placentaire.
 - Lorsque la gestation est menée à terme, cette dernière aboutit à la naissance de jeunes faibles ou mort-nés.
 - stérilité temporaire.
 - Chez la chèvre une forme persistante mammaire est courante avec présence de bactéries dans la mamelle et le nœud lymphatique supramammaire, bactéries excrétées dans le lait à chaque lactation.
- mâle
 - La bactérie se retrouve dans les testicules, les épидидymes, les glandes accessoires : orchite ou orchі-épididymite chez le bouc et le béliеr, élargissement du scrotum, du testicule et de l'épididyme.
 - Parfois baisse de fertilité
- o D'autres localisations : mammites et arthrites peuvent aussi apparaître.
- o brucellose chronique
 - les femelles infectées n'avortent qu'une seule fois, cependant les brucella envahissent à chaque gestation les annexes fœtales
 - porteurs latents
 - infection persistante dans la mamelle et les noeuds lymphatiques supra mammaires
 - chute de la production laitière
 - orchite, épididymite
 - kératite, conjonctivite, bronchite, arthrite
 - La brucellose latente est caractérisée, en l'absence de symptômes, par une EAT positive confirmée par une FC donnant un titre ≥ 20 UCEES/mL

Lésions

- o Les individus atteints développent des lésions granulomateuses dans le tissu lymphoïde, les organes génitaux, la mamelle et les membranes synoviales
- o La nécrose peut toucher les organes cibles de l'infection :
 - Placentite nécrotique
 - orchite, épididymite, prostatite nécrotique
- o mammite aiguë
- o Les avortons présentent pour certains des anomalies:
 - splénomégalie, hépatomégalie
 - hémothorax, hémopéritoine
- o nécrose ou oedème cotylédonaire : ils deviennent épais et grisâtres

Diagnostic

DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

- o Autres causes d'avortement en fin de gestation
- o Orchi-épididymite à *Brucella ovis*.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

- o Plusieurs cotylédons, si possible nécrosés ou hyperémiés, prélevés aussitôt après la mise bas ou l'avortement.
- o Foetus ou d'organes d'animaux mort-nés après accord du laboratoire de référence.
- o Prélèvement de sérum sanguin tenu au frais
- o Organes présentant des lésions, prélevés de manière stérile sur des animaux suspects (testicules, épididyme, rate ou ganglions lymphatiques régionaux)
- o Lait

EXAMENS COMPLEMENTAIRES

Direct

- o Ecouvillon vaginal, calotte placentaire, ou d'avorton
- o La coloration de Stamp des prélèvements permet l'identification par examen microscopique. Des faux positifs par réaction croisée avec *Brucella ovis*, *Chlamydomphila psittaci* ou *Coxiella burnetii* peuvent avoir lieu.
- o La culture en milieux sélectifs aboutit à l'identification de genre et d'espèce et éventuellement la caractérisation du biovar.

Sérologie

- o Tests effectués sur sérum
- o L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT ou test au rose Bengale) ou la fixation du complément :
 - Recherche des anticorps anti *Brucella*.
 - Les antigènes révélateurs utilisés sont des antigènes de *B. abortus*.
 - Inconvénient principal : pas de distinction possible entre animal infecté et animal vacciné (Rev-1).
 - On utilise préférentiellement l'épreuve à l'antigène tamponné dans les zones infectées et l'association épreuve à l'antigène tamponné et fixation du complément dans les zones indemnes (à cause du pourcentage des faux positifs).
 - L'EAT semble plus précoce dans le diagnostic de la maladie.
- o ELISA :
 - L'antigène utilisé est le LPS de *B. abortus* ou de *B. melitensis* (sensibilité équivalente des tests).
 - L'identification de la protéine CP28 (protéine cytoplasmique) permettrait de distinguer un animal vacciné (rev-1) et un animal ayant contracté naturellement la bactérie.
- o Des réactions croisées peuvent apparaître entre *B. melitensis* et *B. ovis* mais aussi *Yersinia enterocolitica* O:9.

Test brucellique :

- o Injection sous cutanée au niveau de la paupière inférieure
- o Injection de 50µg d'allergène soit 0,1mL de la suspension contenant l'allergène.
- o Lecture minimum 72h après inoculation
- o Réactions croisées avec *Yersinia enterocolitica* O:9 possibles

Législation française

- o Le test de référence en laboratoire est l'association EAT et FC.
- o Un autre test est disponible en France : le Brucellergene OCB[®], la lecture s'effectue 48h après injection intradermique (au niveau de la paupière inférieure) de 0,1mL de la suspension contenant l'allergène.

Conduite à tenir

- o Aucun traitement n'est disponible.
- o Détecter et éliminer les animaux positifs

Prophylaxie

SANITAIRE

- o La brucellose est réputée contagieuse sous toutes ses formes (cliniques ou latentes) dans les espèces ovine et caprine.
- o Le dépistage sérologique se pratique seulement à partir de prélèvements sanguins réalisés individuellement sur les ovins et caprins de 6 mois et plus. La période la plus favorable au dépistage sérologique se situe après l'agnelage, au moment où on obtient une élévation des titres en anticorps. Un prélèvement de sang permet d'effectuer une EAT associée en cas de réaction positive à une FC (épreuves réalisées par le Laboratoire Vétérinaire Départemental)
- o Assainissement des troupeaux infectés :
 - passe par deux actions complémentaires
 - isolement et élimination précoces de tous les ovins reconnus infectés
 - destruction du germe éventuellement présent dans l'environnement (désinfection des locaux d'élevage, destruction des matières virulentes...).
 - Compte-tenu de la taille importante des troupeaux et des particularités de l'élevage ovin ou caprin, un résultat définitif ne peut être espéré que si les conditions suivantes sont réunies:
 - taux d'infection faible au moment du dépistage (c'est-à-dire infection récente),
 - renouvellement fréquent des contrôles (tous les mois par exemple), avec élimination immédiate des positifs,
 - cheptel à l'abri des contaminations exogènes (pas de transhumance, pas d'échange de béliers, etc.).
 - Lorsque ces conditions ne sont pas réunies, notamment lorsque le taux d'infection est élevé au départ, la seule solution efficace consiste à envisager l'élimination en bloc du troupeau.
- o Protection des troupeaux indemnes :
 - contrôle des introductions d'animaux (issus d'élevages indemnes),
 - contrôle de la transhumance (l'idéal étant de l'interdire aux troupeaux infectés)
 - contrôle sérologique et/ou allergique régulier des cheptels.
- o Qualification des cheptels :
 - obligatoire pour commercialiser des animaux destinés à l'élevage, pour obtenir une autorisation de transhumance, pour commercialiser du lait cru ou des produits au lait cru (dans ce cas, un contrôle annuel de tous les animaux est obligatoire), pour les boucs et béliers proposés à la monte publique ou envoyés dans des

centres d'insémination et pour les femelles ovines et caprines donneuses d'embryons.

- Officiellement indemne :
 - Tous les animaux identifiés
 - Registre d'élevage régulièrement à jour
 - Aucun symptôme de brucellose depuis 12 mois au moins;
 - Aucun animal vacciné contre la brucellose à moins qu'il ne s'agisse, dans les cheptels ovins ou mixtes, d'animaux vaccinés depuis plus de 2 ans dans des conditions réglementaires)
 - Tous les animaux âgés de 6 mois et plus ont fait l'objet de deux épreuves sérologiques par EAT favorables espacés de 6 à 12 mois.
 - Tous les ovins et caprins introduits dans le cheptel sont identifiés et proviennent directement d'un cheptel officiellement indemne (ou éventuellement d'un cheptel ovin ou mixte indemne, à condition de n'avoir jamais été vaccinés contre la brucellose, d'être isolés et soumis dans un délai de 30 jours à un contrôle sérologique favorable par EAT associé à une FC)
 - Contrôle annuel (ou pluriannuel) favorable (EAT) de tous (ou une partie) les ovins et de tous les caprins âgés de plus de 6 mois. Dans les cheptels ovins ou mixtes, les contrôles peuvent cependant porter seulement sur une fraction du cheptel ovin. Dans les cheptels mixtes, tous les caprins doivent être contrôlés annuellement.
- statut de cheptel ovin ou mixte " indemne de brucellose" (les troupeaux caprins ne pouvant pas être vaccinés ne peuvent pas appartenir à cette catégorie)
 - A la différence de la situation précédente, les ovins (et caprins dans les cheptels mixtes) nés (ou introduits avant l'âge de 6 mois non vaccinés) dans l'exploitation ont été vaccinés.
 - contrôles sérologiques par EAT réalisés comme précédemment, mais sur les ovins âgés de 18 mois au moins (et caprins de 12 mois et plus) lorsqu'ils sont vaccinés.
 - animaux introduits doivent provenir directement d'un cheptel officiellement indemne ou indemne (pas de contrôle sérologique à l'introduction).

- o Dans les départements où est mise en oeuvre une politique exclusivement sanitaire, le rythme des contrôles peut être allégé si le taux d'incidence annuel
 - < 0,5 % depuis 2 ans : 30 % des cheptels sont contrôlés annuellement;
 - < 0,2 % au terme d'une période de contrôle triennal (pendant laquelle 30 % des cheptels étaient contrôlés annuellement) : 20 % des cheptels sont contrôlés annuellement;
 - < 0,02 % au terme d'une période de contrôle quinquennal (pendant laquelle 20 % des cheptels étaient contrôlés annuellement) : 20 % des cheptels sont contrôlés annuellement.
 - Le contrôle reste cependant annuel dans les élevages producteurs de lait cru et les cheptels assainis depuis moins de 5 ans.
- o Dans les troupeaux ovins, le contrôle sérologique peut n'être réalisé que sur une partie du cheptel :
 - tous les mâles non castrés ;
 - tous les nouveaux entrants
 - 25% des femelles ayant mis bas avec un minimum de 25 individus
- o Opérations d'assainissement
 - La confirmation d'une suspicion clinique ou des sérologies positives entraîne la mise en place d'un Arrêté Préfectoral portant déclaration d'infection.
 - Mesures d'assainissement :
 - isolement et séquestration des animaux brucelliques
 - Contrôle sérologique de tous les ovins et caprins.
 - Contrôle sérologique des autres espèces sensibles de l'exploitation, bovins et chiens.
 - Marquage des ovins, caprins (et bovins) positifs (apposition de la marque O de 20 mm de diamètre à l'emporte-pièce à l'oreille gauche). Si le cheptel a été considéré comme trop infecté, les prescriptions ci-dessus mentionnées s'appliquent à la totalité des animaux.
 - Elimination des animaux marqués dans les 30 jours. Chaque ovin ou caprin éliminé doit être accompagné d'un "Laissez-passer - Titre d'élimination" transmis par le DDSV sur lequel le VS a mentionné le prix d'estimation. Ce laissez-passer permettra le calcul de l'indemnité d'abattage attribuée à l'éleveur.
 - Destruction des enveloppes placentaire, dépôt des fumiers, litières et pailles (dans des conditions propres à détruire les Brucella) à l'écart des animaux, désinfection des locaux.

- Contrôles d'assainissement et de requalification
 - Après élimination des animaux marqués et désinfection des lieux contaminés, des contrôles sérologiques (contrôles d'assainissement) par EAT et FC sont réalisés à intervalles 6 semaines au moins à 2 mois au plus. Les ovins et caprins nouvellement recensés infectés sont marqués et éliminés comme précédemment.
 - Après un contrôle entièrement négatif, l'APPDI est remplacé par un APMS
 - Après 2 contrôles négatifs à 4-6mois d'intervalle effectués après 6 semaines à 2 mois après le contrôle négatif d'assainissement, la requalification du cheptel et la levée de l'APMS sont prononcées.

MEDICALE :

- La vaccination est interdite en France sauf dérogation dans certains départements
- Il existe différents vaccins, le principal utilisé étant le vaccin à souche vivante atténuée de *B. melitensis* Rev-1.
 - Ce vaccin permet un haut degré de protection contre la maladie et limite la durée d'excrétion de bactéries chez les animaux infectés.
 - La vaccination peut se faire par voie sous-cutanée ou par voie conjonctivale
 - Une virulence résiduelle persiste dans ces souches et peut parfois entraîner des avortements lorsque la vaccination est effectuée avant le dernier mois de gestation.
 - Pour limiter l'excrétion de bactéries et les avortements, la vaccination par voie conjonctivale pendant le dernier mois de gestation ou après est recommandée.
 - La voie conjonctivale permet aussi de limiter les réactions positives aux tests sérologiques. Il y a donc une meilleure discrimination entre les animaux infectés et les animaux vaccinés.
 - Une seule administration (sans rappel) par voie SC ou conjonctivale à des jeunes femelles âgées de 3 à 6 mois assure leur protection (relative) durant plusieurs années. La réponse sérologique des jeunes femelles est limitée et n'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes (pratiqué à partir de 12 mois chez les caprins et 18 mois chez les ovins)

Risque pour l'homme

- *B. melitensis* est très pathogène pour l'Homme. Les cas cliniques les plus graves en France sont majoritairement occasionnés par cette espèce.

- o Les risques de contamination apparaissent
 - lors de manipulation des vaccins
 - par contact direct avec les animaux infectés
 - aussi par l'intermédiaire du lait et des fromages frais non fermentés, surtout lorsqu'ils proviennent de chèvres infectées

Bibliographie :

- 1- BLASCO J.M., MARÍN C., JIMÉNEZ DE BAGUÉS M., BARBERÁN M., HERNÁNDEZ A., MOLINA L. *et al.*, Evaluation of Allergic and Serological Tests for Diagnosing *Brucella melitensis* Infection in Sheep, *J. Clin. Microbiol.*, 1994, **32**, 1835-1840
- 2- CETINKAYA B., ONGOR H., Evaluation of immunocomb in comparison with other serological tests in ovine brucellosis, *Vet. Rec.*, 2000, **147**, 632-634
- 3- CHAND P., SADANA J.R., MALHOTRA A.K., Epididymo-orchitis caused by *Brucella melitensis* in breeding rams in India, *Vet. Rec.*, 2002, **150**, 84-85
- 4- CHAND P., SADANA J. R., MALHOTRA A. K., POONIA J. S., Indirect ELISA for the detection of antibodies to *Brucella melitensis* in sheep milk, *Vet. Rec.*, 2004, **155**, 639-641
- 5- DURAN-FERRER M., LUCAS A., GARRIDO F., MENDOZA J., OSUNA A., LEÓN L. *et al.*, Evaluation of a new immunocapture test for the diagnosis of ovine brucellosis caused by *Brucella melitensis*, *Vet. Rec.*, 2002, **151**, 629-635
- 6- EUROPEAN COMMISSION HEALTH AND CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE GENERAL. *Brucellosis in Sheep and Goats (Brucella melitensis)*. July 2001, 17 Dec 2002 [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scah/out59_en.pdf]
- 7- GANIÈRE J.P. *et al.*, La brucellose animale, Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, ENV Lyon, 2005, 45 p.
- 8- GARIN-BASTUJI B., BLASCO J.M., GRAYON M., VERGER J.M., *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future, *Vet. Res.*, 1998, **29**, 255-274
- 9- GRILLO M.J., BARBERAN M., BLASCO J. M., Transmission of *Brucella melitensis* from sheep to lambs, *Vet. Rec.*, 1997, **140**, 602-605
- 10- MARIN C.M., JIMENEZ DE BAGIIES M.P., BARBERAN M., BLASCO J.M., Comparison of two selective media for the isolation of *Brucella melitensis* from naturally infected sheep and goats, *Vet. Rec.*, 1996, **138**, 409-411
- 11- REKIKI A., RODOLAKIS A., Diagnostic des avortements chez les petits ruminants, *Point Vét.*, 2004, **243**, 24-31
- 12- TAINTURIER D., Les maladies abortives chez les petits ruminants, *Point Vét.*, **Numéro spécial 33**, 2002, 34-38