

Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie)

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Clotilde Marie Aude SIBILLE

Née le 22 décembre 1982 à TASSIN-LA-DEMI-LUNE (Rhône)

Directeur de thèse : M. Guy Bodin

JURY

PRESIDENT :
M. DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. BODIN
M. BERTAGNOLI

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE(S) INVITES(S) :
M.GARIN-BASTUJI
M. BENZERRAK
M.LAVAL

Docteur Vétérinaire, Laboratoire OIE/FAO de référence pour la brucellose
Docteur Vétérinaire, Chargé de programmes à VSF-CICDA
Docteur Vétérinaire, Chef de projet pour VSF-CICDA

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	J. FERNEY
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAUX
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	D. GRIESS
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELFY
	M.	M. EECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BRAUN Jean-Pierre, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. CABANIE Paul, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. DARRE Roland, *Productions animales*
- M. DORCHIES Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. TOUTAIN Pierre-Louis, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
- M. BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. HENROTEAUX Marc, *Médecine des carnivores*
- M. MARTINEAU Guy-Pierre, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
- M. SAUTET Jean, *Anatomie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. DUCOS de LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme KOLF-CLAUW Martine, *Pharmacie - Toxicologie*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. PICALET Dominique, *Pathologie infectieuse*
- Mlle TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. TAMZALI Youssef, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme MICHAUD Françoise, *Professeur d'Anglais*
- M. SEVERAC Benoît, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme BRET-BENNIS Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme COLLARD-MEYNAUD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme MEYNADIER-TROEGELER Annabelle, *Alimentation*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme RAYMOND-LETRON Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*

A Monsieur le Professeur Henri DABERNAT,

Professeur des Universités,
Praticien hospitalier,
Bactériologie – Hygiène,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Guy Bodin ROZAT DE MANDRES NEGRE,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie

Qui nous a fait l'honneur de superviser ce travail,
Une grande reconnaissance pour avoir consacré le temps et l'énergie nécessaires à cette collaboration.

A Monsieur le Docteur Stéphane BERTAGNOLI,

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie infectieuse,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,
Qu'il soit assuré de nos sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Bruno GARIN-BASTUJI,

Docteur vétérinaire, AFSSA Alfort, Unité Zoonoses Bactériennes, Laboratoire
OIE/FAO de référence pour la brucellose animale, Laboratoire d'études et de recherches en
pathologie animale et zoonoses,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,
Qu'il soit assuré de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Saadi BENZERRAK,

Docteur vétérinaire,
Chargé des programmes Asie de VSF-CICDA,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,
Une grande reconnaissance pour sa présence et son soutien.

A Monsieur le Docteur Géraud LAVAL,

Docteur vétérinaire,
Chef du projet Mongolie de VSF-CICDA,

Qui nous a fait l'honneur de collaborer à la rédaction de cette thèse,
Sincères remerciements pour son soutien et sa présence.

Plus personnellement...

Je remercie **Guy Bodin**, professeur de microbiologie à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, qui a montré dès le début le plus grand enthousiasme pour cette étude, qui m'a généreusement consacré son temps et qui m'a fait partager tout son savoir.

Je remercie **Géraud Laval**, chef du projet VSF-CICDA en Mongolie, pour m'avoir guidée tout au long de mon stage, et jusque dans la rédaction de cette thèse, et pour avoir pris le temps de parler de son expérience et de sa motivation, et bien sûr pour ses qualités humaines.

Je remercie **Saadi Benzerrak**, chargé des programmes Asie de VSF-CICDA, qui a pris le temps de m'écouter et de m'expliquer, qui m'a chaleureusement intégrée à cette ONG, et pour son humanité aussi.

Pour leur participation active à cette étude, merci à **Gérard Brunet**, logisticien du projet VSF-CICDA en Mongolie ; **Stéphane Moreau** stagiaire agronome sur le projet de VSF-CICDA ; **Ganzorig**, responsable des animaux du suivi à Ondor Ulaan ; **Basenjav**, coordinateur des comités de santé animale de l'Arkhangai ; **Naarantsatsral**, étudiante vétérinaire à l'université d'Ulaan Baatar ; et **Gambat**, notre chauffeur durant toute l'étude.

Pour leur aide à la rédaction de cette thèse, merci à **Flavie Goutard**, épidémiologiste au CIRAD, et merci aussi pour son attention aux autres, merci au docteur **Garin-Batuji** pour ses informations précieuses, merci à **Faouzi Liazhri**, professeur de statistiques à l'ENVT, **Guillaume Gerbier**, épidémiologiste au CIRAD.

Pour leur soutien matériel, merci à **Philippe Pourquoi**, directeur de l'Institut Pourquoi, qui m'a généreusement fourni l'antigène Rose Bengalee nécessaire à cette étude. Merci aussi à **Françoise Fajon**, sérologiste à l'Institut Pourquoi, qui a pris le temps de me former aux techniques de laboratoires. Merci au laboratoire **Synbiotics Europe SA**.

Pour m'avoir soutenu dans une épreuve difficile, merci à **Stéphane**, sans qui de difficile l'épreuve serait devenue insurmontable ; merci à **Gérard**, sans qui je serais peut être toujours en Mongolie sur un lit d'hôpital... ; merci au **docteur Gatzorig**, interne à l'hôpital d'Ulaan Baatar, qui m'a prodigué ses meilleurs soins ; merci à **Noémie**, pour ses sourires qui savent illuminer jusqu'à une chambre d'hôpital ; merci à mes chauffeurs inconnus et leur 4*4 de luxe ; merci à mes anges gardiens... et bien sûr merci à **toute ma petite famille**, qui a été là tout le temps, et jusqu'au bout.

Et enfin, parce qu'on ne peut rien faire sans eux, merci à Anne-Colombe, Céline, Franck, Gaële, Guillaume, Magalie, Rachid, Séverine, Yoni et tous les autres !

Table des matières

TABLE DES MATIERES.....	7
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	10
GLOSSAIRE.....	12
INTRODUCTION GENERALE.....	13
PREMIERE PARTIE..... : LA BRUCELLOSE ET L'ELEVAGE EN MONGOLIE.....	15
CHAPITRE 1 : PLACE DE L'ELEVAGE EN MONGOLIE.....	17
1. Présentation générale de la Mongolie.....	17
a. Géographie.....	17
b. Histoire.....	18
c. Politique.....	19
d. Economie.....	21
2. Le secteur de l'élevage.....	22
a. Un élevage traditionnel dominant.....	22
b. Le système de santé animale.....	25
CHAPITRE 2 : LA BRUCELLOSE, UNE ZOONOSE MAJEURE.....	27
1. La brucellose animale : importance, étiologie, pathogénie, clinique et lésions.....	27
a. Brucellose bovine.....	27
b. Brucellose ovine et caprine.....	31
c. Brucellose des autres espèces animales.....	33
2. La brucellose zoonose.....	34
3. Epidémiologie de la brucellose.....	36
a. Brucellose bovine.....	36
b. Brucellose des petits ruminants.....	38
4. Les techniques de diagnostic.....	40
a. Diagnostic épidémio-clinique.....	40
b. Diagnostic expérimental.....	40
5. Les méthodes de surveillance et de lutte.....	49
a. Traitement.....	49
b. Prophylaxie sanitaire.....	49
c. Prophylaxie médicale.....	51
CHAPITRE 3 : LA BRUCELLOSE EN MONGOLIE : UNE PRIORITE NEGLIGEE.....	55
1. Histoire de la brucellose en Mongolie.....	55
2. Situation actuelle.....	58
3. Programme National de surveillance de la brucellose.....	60

DEUXIEME PARTIE : DEPISTAGE SEROLOGIQUE DE LA BRUCELLOSE DANS TROIS SUMS DE L'ARKHANGAÏ.....63

CHAPITRE 1 : OBJECTIFS ET CONTEXTE DE L'ETUDE.....	65
1. Objectifs de l'étude.....	65
2. Zone de l'étude : trois sums de l'Arkhangai.....	66
3. L'élevage dans la province de l'Arkhangai.....	68
4. Projet VSF-CICDA de « Sécurisation du niveau de vie des éleveurs de l'Arkhangai ».....	70
5. Epidémiologie de la brucellose en Arkhangai.....	72
a. Fonctionnement des réseaux d'épidémiologie.....	72
b. Apports du projet d'Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières.....	75
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE.....	79
1. Echantillonnage.....	79
2. Prélèvements.....	80
3. Dépistage par épreuve à l'antigène tamponné.....	82
4. Tests de confirmation.....	83
5. Test de l'anneau sur le lait.....	83
6. Analyses statistiques.....	84
a. Calcul des taux de prévalence et des intervalles de confiance.....	84
b. Test du chi deux.....	84
c. Test de Kappa.....	85
d. TAGS : Tests en l'Absence de Gold Standard.....	86
7. Enquête sur les facteurs de risque.....	87
CHAPITRE 3 : RESULTATS.....	89
1. Prévalence apparente de la brucellose chez les taureaux.....	89
2. Prévalence apparente de la brucellose chez les petits ruminants.....	91
3. Comparaison de nos résultats avec ceux des vétérinaires mongols.....	92
4. Estimation de la prévalence troupeau de la brucellose.....	94
5. Principaux facteurs de risque demeurant vis-à-vis de la brucellose.....	95
a. Régie de la reproduction.....	95
b. Gestion des mises bas.....	96
c. Ventes et achats d'animaux.....	97
d. Formation des éleveurs.....	98
CHAPITRE 4 : DISCUSSION ET CONCLUSION.....	99
1. Discussion des méthodes.....	99
a. Echantillonnage.....	99
b. Tests diagnostics utilisés.....	99
c. Analyses statistiques.....	100
2. Discussion des résultats.....	101
a. Prévalence de la brucellose bovine.....	101
b. Prévalence de la brucellose chez les petits ruminants.....	102
c. Comparaison de nos résultats avec ceux des vétérinaires mongols.....	102
d. Facteurs de risque vis-à-vis de la brucellose.....	103
3. Conclusion.....	104

**TROISIEME PARTIE : ANALYSE CRITIQUE DU SYSTEME
D'EPIDEMIOSURVEILLANCE MONGOL ET PERSPECTIVES
D'AMELIORATION.....105**

CHAPITRE 1 : LACUNES ET INCOHERENCES IDENTIFIEES.....107

1. Problématiques de terrain.....107
 - a. Prélèvements.....107
 - b. Techniques de laboratoire.....110
2. Insuffisances logistiques et institutionnelles.....112
 - a. Niveau local.....112
 - b. Niveau national.....113

CHAPITRE 2 : AMELIORATIONS ENVISAGEES ET LIMITES.....115

1. Apports directs de cette étude.....115
2. Propositions d'améliorations au niveau national.....117
3. Limites humaines et politiques.....120

CONCLUSION GENERALE.....121

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....123

ANNEXES.....127

- Annexe 1 : Activités mises en place par le projet VSF-CICDA au printemps 2006.....129*
- Annexe 2 : Déroulement de la campagne de prophylaxie dans les sums de Ondor Ulaan, Tariat et Khangai.....130*
- Annexe 3 : Fiche de prélèvements : prises de sang sur mâles reproducteurs.....132*
- Annexe 4 : Fiche de prélèvements : prises de sang sur animaux bouclés.....133*
- Annexe 5 : Fiche de prélèvements pour Ring Test.....134*
- Annexe 6: Fiche d'accompagnement des prélèvements à confirmer.....135*
- Annexe 7 : Questionnaire d'enquête.....136*
- Annexe 8 : Résultats détaillés par bag des épreuves à l'antigène tamponné réalisées dans les trois sums.....139*
- Annexe 9 : Résultats des Ring Tests.....142*
- Annexe10 : "TAGS", evaluation of Tests in the Absence of a Gold Standard.....143*
- Annexe 11 : Results for Rweb.....144*

Table des illustrations

CARTES

<u>Carte 1</u> : Situation géographique de la Mongolie.....	17
<u>Carte 2</u> : Les provinces de la Mongolie.....	20
<u>Carte 3</u> : Zone de l'étude.....	66

TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : Recensement du personnel vétérinaire mongol en 2004.....	26
<u>Tableau 2</u> : Comparaison des principales caractéristiques des brucelloses.....	35
<u>Tableau 3</u> : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique.....	46
<u>Tableau 4</u> : Etudes de prévalence de la brucellose réalisées en Mongolie au cours des trois dernières années.....	58
<u>Tableau 5</u> : Programme de surveillance de la brucellose en Arkhangai pour 2005.....	72
<u>Tableau 6</u> : Campagne de surveillance de la brucellose bovine effectuée en juin 2005 dans les trois sums du projet : population ciblée, prélèvements réalisés et résultats.....	73
<u>Tableau 7</u> : Programme de surveillance de la brucellose pour l'été 2006 dans les sums de Ondor Ulaan, Tariat et Khangai.....	79
<u>Tableau 8</u> : Prévalence de la brucellose bovine (sur mâles reproducteurs) dans 3 sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT.....	89
<u>Tableau 9</u> : Effectifs observés et théoriques des prévalences chez les taureaux des 3 sums..	90
<u>Tableau 10</u> : Prévalence de la brucellose ovine (sur mâles reproducteurs) dans trois sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT.....	91
<u>Tableau 11</u> : Prévalence de la brucellose caprine (sur mâles reproducteurs) dans trois sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT.....	91
<u>Tableau 12</u> : Comparaison des résultats des tests Rose Bengale réalisés sur les taureaux des trois sums et des prévalences calculées.....	92
<u>Tableau 13</u> : Tableau de contingence pour les taureaux de Ondor Ulaan.....	93
<u>Tableau 14</u> : Tableau de contingence pour les taureaux de Tariat.....	93
<u>Tableau 15</u> : Tableau de contingence pour les taureaux de Khangai.....	93
<u>Tableau 16</u> : Tableau de contingence pour les taureaux des trois sums.....	93
<u>Tableau 17</u> : Résultats des Ring Tests dans le sum d'Ondor Ulaan.....	94
<u>Tableau 18</u> : Résultats des tests de dépistage sur taureaux réalisés en 2005 et en 2006 dans les sums de Ondor Ulaan, Tariat et Khangai.....	101
<u>Tableau 19</u> : Taux de prévalence de la brucellose en Arkhangai de 2000 à 2005.....	101
<u>Tableau 20</u> : Nombre de prélèvements réalisés sur les taureaux au cours des étés 2005 et 2006.....	115
<u>Tableau 21</u> : Synthèse des recommandations pour l'amélioration du système de surveillance de la brucellose, au niveau local et national.....	119

FIGURES

<u>Figure 1</u> : Structure administrative de la Mongolie.....	19
<u>Figure 2</u> : Répartition des familles en fonction de la taille du troupeau, 2002.....	23
<u>Figure 3</u> : Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose.....	50
<u>Figure 4</u> : Diagramme ombrothermique de la zone.....	67
<u>Figure 5</u> : Epidémiosurveillance active de la brucellose en Arkhangai et apports du projet VSF-CICDA.....	76

PHOTOS

<u>Photo 1</u> : Changement de camps.....	22
<u>Photo 2</u> : Taureau yak.....	68
<u>Photo 3</u> : Prise de sang à la jugulaire sur un taureau yak.....	80
<u>Photo 4</u> : Remplissage des fiches de prélèvement.....	81
<u>Photo 5</u> : Réalisation des tests Rose Bengale dans le laboratoire d'Ondor Ulaan.....	82
<u>Photo 6</u> : Enfant portant un jeune chevreau.....	96
<u>Photo 7</u> : Méthode traditionnelle pour bouillir le lait.....	98
<u>Photo 8</u> : Prise de sang à la veine jugulaire sur taureau couché.....	108
<u>Photo 9</u> : Séance de vaccination dans un couloir de contention.....	109
<u>Photo 10</u> : Pipetage de Rose Bengale avec un porte pipette doseur.....	111
<u>Photo 11</u> : Prise de sang sous la queue sur un taureau yak.....	116

Glossaire

AVSF : Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières
VSF-CICDA : Vétérinaires Sans Frontières – Centre International de Coopération pour le Développement Agricole
FC/CFT : Complement Fixation Test
SAT : Séro-Agglutination Test
RBT : Rose Bengalee Test
ELISA: Enzyme Like Immuno Sorbent Assay
LPS: Lipo Poly Saccharide
PCR: Polymerase Chain Reaction
BV : bovins
OV : ovins
CP: caprins

Aïmag (*Аймаг*) : Plus grande unité administrative du pays (province)
Sum (*Сум*) : Subdivision de l’Aïmag
Bag (*Баг*) : Subdivision du Sum
Aïrag (*Айраг*): Lait fermenté
Dzud (*Зуд*) : Catastrophe climatique
Ger (*Гэр*) : Tente mongole de forme ronde (yourte)
Khural : Assemblée représentant le peuple
Khot Ail (*Хот айл*) : Groupement saisonnier de familles sur une station
Negdel (*Нэгдэл*) : Coopérative
Tügrig : Unité monétaire mongole (1500 tügrigs ≈ 1 euro)
Aruul : Yaourt séché
Ondor Ulaan (*Өндөр Улаан*) : Centre Sum de la zone d’étude
Tariat (*Тариат*) : Centre Sum de la zone d’étude
Khangai (*Хангай*) : Centre Sum de la zone d’étude
Tsetserleg : Centre Aïmag de la zone d’étude

INTRODUCTION GENERALE

En Mongolie, où le nombre de têtes de bétail est largement supérieur au nombre d'habitants, la commercialisation des denrées animales est encore très peu organisée, et les produits laitiers vendus dans les grandes surfaces sont en grande majorité issus de l'importation. En effet, entré récemment dans l'économie de marché, le pays ne peut pour l'instant prétendre à exporter ses productions en raison de l'absence de reconnaissance internationale du statut sanitaire de son cheptel. La brucellose, zoonose classée majeure par les organismes internationaux et ayant de graves conséquences sur la santé humaine et les revenus des éleveurs, doit notamment être efficacement contrôlée si le pays veut obtenir l'autorisation de commercialiser sa viande et ses produits laitiers dans les pays industrialisés.

L'étude qui a été menée dans la province de l'Arkhangai a mis en évidence une forte prévalence de la brucellose, et la sous évaluation de son importance par les instances administratives et les professionnels de santé animale. En effet, la réalisation de tests de dépistage sur des animaux non vaccinés des espèces bovine, ovine et caprine de trois départements de l'Arkhangai nous a permis de calculer un taux de prévalence de la maladie proche de 15% chez les bovins. De plus, ce travail ayant été conduit dans le cadre des campagnes de prophylaxie nationales, en collaboration avec le personnel vétérinaire mongol, il a été l'occasion d'établir une critique de l'ensemble du système d'épidémiosurveillance, tant dans ses aspects pratiques qu'au niveau de l'élaboration de ses stratégies.

Nous commencerons ici par une étude bibliographique sur la brucellose, son épidémiologie, et les différents moyens de diagnostic et de lutte qui y sont adaptés. Nous retracerons également l'histoire de cette maladie en Mongolie, et nous insisterons sur son importance actuelle pour les éleveurs traditionnels semi-nomades.

Ensuite, nous détaillerons l'étude de prévalence qui a été réalisée dans l'Arkhangai, et nous comparerons les résultats obtenus avec ceux des vétérinaires locaux, qui utilisent le même test de dépistage, à savoir l'épreuve à l'antigène tamponné, mais selon des modalités différentes.

Enfin, nous évoquerons les problèmes qui ont été identifiés aux différentes étapes du système d'épidémiosurveillance mongol, et nous tenterons d'y répondre en proposant des solutions adaptées au contexte.

PREMIERE PARTIE :
LA BRUCELLOSE ET L'ELEVAGE EN
MONGOLIE

CHAPITRE 1 : PLACE DE L'ELEVAGE EN MONGOLIE

1. Présentation générale de la Mongolie [14,18, 26, 27]

a) Géographie

La Mongolie est un pays d'Asie centrale de 1 566 500 km², soit environ trois fois la France, qui est situé entre la Chine et la Russie.



Cartel : Situation géographique de la Mongolie

Source : MAGELLAN Geographix, 1997. www.maps.com

La population, de 2,8 millions d'habitants, présente la densité la plus basse du monde, soit 1,4 habitants au kilomètre carré. Un million d'entre eux habite dans la capitale, Ulaanbaatar.

La plus grande partie du pays est constituée de steppes. Cependant, le Désert de Gobi recouvre la partie sud du pays, alors qu'au nord et à l'ouest se trouvent des régions montagneuses aux forêts abondantes.

Le climat est semi-aride continental : chaud en été et extrêmement froid en hiver, avec des températures pouvant descendre jusqu'à -30°C.

b) Histoire

Au XIII^e siècle, Gengis Khan unifie les tribus mongoles et crée un empire, œuvre poursuivie par ses successeurs Ögödei, Güyük, Möngke et Khubilai. Cet empire commence à s'effondrer en 1386, avec la perte de la Chine. Au XVI^e siècle, sous le règne d'Altan Khan, les Mongols se convertissent au bouddhisme tibétain. Un siècle plus tard, ils tombent sous la domination des Mandchous, et les soutiennent pour la conquête de l'intérieur de la Chine. Leur pays est transformé en deux provinces chinoises, la Mongolie intérieure et la Mongolie extérieure. Après l'invasion russe de la fin du XVII^e siècle, la Mongolie du nord (la région du lac Baïkal) est annexée par la Russie. L'indépendance de la Mongolie extérieure est déclarée en 1921 à la suite d'une révolution menée par Sukhbaatar ; mais il n'y a pas de gouvernement indépendant avant 1924, lors de la mise en place la République populaire mongole avec le soutien de l'URSS.

La Mongolie devient alors le deuxième pays communiste du monde, les éleveurs sont forcés de rejoindre des coopératives et le profit privé est interdit. Les communistes luttent contre toute religion et de nombreux moines sont abattus, ainsi que des temples détruits. La culture Russe est peu à peu imposée, au dépend des traditions mongoles.

Pendant la Seconde Guerre mondiale, les alliés soviétiques défendent la Mongolie face au Japon. Le 20 octobre 1945, par référendum, les Mongols votent pour l'indépendance vis-à-vis de la Chine, sous le contrôle de l'armée Rouge. Le pays abritera de nombreuses bases soviétiques pendant la Guerre froide. La Mongolie rejoint les Nations unies en 1961.

En 1990, le parti communiste relâche son contrôle sur le gouvernement, suite à d'importantes manifestations à Ulaanbaatar en faveur de la démocratie, ainsi qu'à de puissants mouvements de grèves. En 1992, la république populaire est abandonnée et remplacée par un État hybride, entre système parlementaire et système présidentiel. La constitution actuelle est alors rédigée.

c) Politique

La Mongolie a un exécutif bicéphale, avec à la tête de l'État un Président élu et à la tête du gouvernement un Premier ministre. Le Parlement, appelé le Grand Khoural, comporte 76 sièges.

Le parti dominant en Mongolie est le *Parti révolutionnaire du peuple mongol* (PRPM) formé par les anciens communistes mongols après la Guerre froide. Le principal parti d'opposition est le *Parti démocratique* qui a contrôlé une coalition au pouvoir entre 1996 et 2000. Cette coalition, n'ayant réussi ni à maintenir sa cohésion ni à régler les problèmes économiques du pays, a été très lourdement sanctionnée par les électeurs en 2000 : ils ont donné la victoire au PRPM avec une écrasante majorité. Aux élections législatives de 2004, le PRPM et l'opposition ayant obtenu un nombre égal de sièges, ils décident d'élaborer un programme commun et de former un gouvernement d'union nationale. Tsakhiagiyn Elbegdorj, issu du Parti démocratique, a alors été nommé Premier ministre, tandis qu'un communiste est devenu président du Grand Khoural.

À l'issue de l'élection présidentielle de mai 2005, l'ancien Premier ministre Nambaryn Enkhbayar, candidat du PRPM, est élu président de la République avec 53,4 % des suffrages exprimés et remplace Natsagiyn Bagabandi, lui aussi issu du PRPM.

En janvier 2006, le PRPM décide de quitter la coalition gouvernementale avec le Parti démocratique, arguant de la mauvaise gestion économique et de la forte inflation du *tügrig*. A la suite de cela, les dix ministres du PRPM ont quitté le gouvernement, puis Elbegdorj a démissionné de son poste de premier ministre et le gouvernement a été dissous par le Grand Khoural. Le PRPM forme alors une nouvelle coalition avec des petits partis et son secrétaire général est investi premier ministre.

Administrativement, la Mongolie est divisée en 21 provinces ou *aimags* auxquelles on peut ajouter des municipalités autonomes, comme Ulaanbaatar. Ces *aimags* sont à leur tour divisés en centres *aimags* et en *sums*, qui sont les zones rurales alentours.

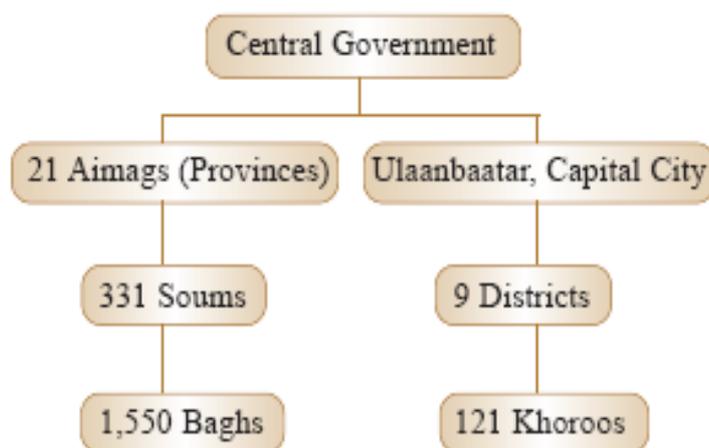


Figure1 : Structure administrative de la Mongolie
Source : NSO, Mongolian Stastical Yearbook 2002

Les *sums* ont en moyenne une population de 3000 habitants et sont composés d'un centre *sum* et de *bags* (qui est la plus petite unité administrative). Chaque niveau administratif a un *khural* (assemblée) et un gouverneur (représentant local du gouvernement), nommé par le *khural* et approuvé par le premier ministre.



Carte 2 : Les provinces de la Mongolie (1: Arkhangai)

Source : www.Wikipedia.fr

d) Economie [14, 18, 26, 27]

Les ressources naturelles de la Mongolie sont constituées par les minéraux (cuivre, molybdène, fluorine, tungstène) et les pierres précieuses et semi-précieuses, et de l'or. On trouve aussi du charbon et du pétrole, non exploité par manque d'infrastructure. Tous ces produits représentent, en valeur, les deux tiers des exportations mongoles.

En 2005, l'agriculture représente 21,7% du Produit Intérieur Brut, dont 80% vient de l'élevage [18]. La Mongolie est donc exportatrice de produits d'origine animale: viande, laine et poils d'animaux, dont le cachemire (2^{ème} producteur mondial, 2^{ème} ressource nationale après le cuivre). L'élevage procure environ 40% de tous les emplois de la Mongolie [26]. En revanche, seulement 1% des terres agricoles est utilisé pour la culture (blé et autres céréales, pommes de terre, légumes).

Cependant, malgré la pratique de l'élevage et la culture du blé, la Mongolie ne peut pas subvenir à ses besoins alimentaires, ce qui contribue au déficit chronique de sa balance commerciale et à son endettement.

Après des décennies d'économie planifiée, ce pays a effectué une difficile transition vers l'économie de marché. L'inflation a atteint 325% en 1992, après l'effondrement du régime communiste, mais elle a par la suite été maîtrisée. En 2002, on estime que le taux de chômage est de 17,5% de la population active [26]. Le salaire mensuel moyen n'est alors que de 75 500 *tügrigs* (soit environ 68 euros). Bien que le chômage sévise surtout en ville, le niveau de vie y est plus élevé qu'à la campagne.

Le pays possède une dette considérable de 11 milliards de dollars vis-à-vis de la Russie. Le Mongolie a rejoint l'Organisation Mondiale du Commerce en 1997.

2. Le secteur de l'élevage [2, 7, 8, 11, 12, 17, 18, 26]

a) Un élevage traditionnel dominant

En Mongolie, 80% des terres sont dédiés au pâturage permanent, 1% sont des terres arables (blé, orge, pommes de terre), et 9% sont de la forêt [11]. Ainsi, 39,8% de la population mongole est rurale et la majorité des éleveurs sont semi-nomades, logeant dans des yourtes (ou *gers*) et vivant de l'élevage de petits chevaux, de moutons, de chèvres et de bovins [18]. Dans ce système d'exploitation, l'ensemble de la famille et du bétail se déplace saisonnièrement entre quatre stations, généralement fixes d'une année sur l'autre, et au sein d'une même vallée. Les stations et parcours d'hiver et de printemps se situent en hauteur dans des zones abritées, ceux d'automne et d'été plus en aval dans les vallées principales.



Photo 1: Changement de camps

Source : Clotilde Sibille

Durant le régime communiste, le bétail était quasiment entièrement propriété de l'état et il était gardé dans des troupeaux de coopérative, c'est-à-dire que les éleveurs s'occupaient d'animaux dont ils n'étaient pas propriétaires. Le secteur de l'élevage était entièrement dirigé par 281 coopératives agricoles, appelées *negdels*, qui se partageaient tout le territoire et géraient chacune les pâtures de sa zone [26]. Ces *negdels* décidaient de la répartition des animaux entre les éleveurs et en régulaient le nombre. Ils prenaient également en charge l'entretien des puits, la construction d'abris d'hiver et le fonctionnement des services vétérinaires. Enfin, ils achetaient la viande et les produits laitiers aux éleveurs et se chargeaient ensuite de les commercialiser.

Lors de la chute du régime, en 1990, 95% du bétail redevient privé. A cette période le chômage s'abat sur la Mongolie et un exode important s'effectue depuis les villes vers les campagnes, conduisant à une forte augmentation du nombre d'éleveurs (+140% entre 1990 et 1993). Le nombre d'animaux croit lui aussi, de 25,9 millions à 33,6 millions de têtes de bétail entre 1990 et 1999 [26]. Mais la taille moyenne des troupeaux diminue, et leur composition se modifie : alors que le nombre de moutons est resté constant, le nombre de chèvres a augmenté de plus de 200% sur cette période, en raison de la hausse du prix du cashmere. Les effectifs de chameaux ont eux largement diminué, leurs productions étant peu rentables, et le nombre de chevaux a augmenté de 40%. Ces « nouveaux » éleveurs sont souvent peu performants et la dégradation des infrastructures mises en place par les negdels, notamment des puits, entraîne rapidement des difficultés d'accès à l'eau et de surpâturage dans certaines zones. En effet, lorsque les pâtures étaient contrôlées par les negdels, les mouvements saisonniers étaient bien respectés, mais par la suite le bétail est passé sous l'autorité du Ministère de l'Agriculture, tandis que les pâtures sont en charge du ministère de la nature et de l'environnement. Ceci a mené à des problèmes de surpâturage, surtout autour des agglomérations. En règle général, les pâtures d'été et d'automne sont sous-utilisées, tandis que celles d'hiver et de printemps sont surexploitées.

Depuis 1999, il y a eu, sur 60% du territoire mongol, une succession de sécheresses estivales et d'hivers sévères avec de fortes chutes de neiges, appelées *dzuds*, qui ont provoqué la mort de nombreux animaux. Ainsi, on compte 2,4 millions d'animaux morts pendant l'hiver 1999-2000, et 2,2 millions pendant l'hiver 2000-2001, ce qui a réduit le cheptel à seulement 23 millions de têtes en 2002 [18]. De nombreux mongols ont alors émigré vers les villes, surtout Ulaanbaatar et le nombre d'éleveurs a diminué de plus de 4% entre 2001 et 2002.

De nos jours, l'élevage est resté majoritairement extensif, familial et traditionnel, avec des troupeaux mixtes et une conduite de troupeau très souple. Dans le centre de la Mongolie, recouvert de steppes et de montagnes, les troupeaux sont constitués de bovins, de petits ruminants et de chevaux ; tandis que dans la région aride du Gobi, les chameaux remplacent les bovins, et que des rennes sont élevés dans le nord. On estime que 200-300 animaux sont nécessaires à la survie d'une famille de 4-5 personnes [26], mais les troupeaux sont souvent de plus petite taille (*figure 2*).

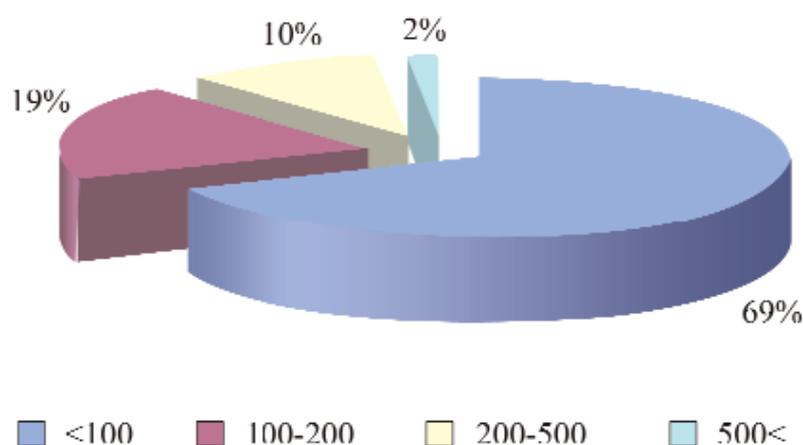


Figure 2: Répartition des familles en fonction de la taille du troupeau, 2002
(Source: NSO, Mongolian Statistical Yearbook, 2002)

Les animaux se nourrissent exclusivement sur prairies naturelles, avec une période de soudure souvent difficile à la fin de l'hiver. En effet, les éleveurs, semi nomades pour la plupart, ne font que peu de fourrages en vue de compléter les rations d'hiver. La gestion des pâturages se fait généralement par roulement saisonnier et les animaux s'abreuvent dans les rivières et les mares, ou encore grâce à des puits dans les zones où ils sont encore fonctionnels.

Quatre types d'animaux sont élevés majoritairement : des bovins, des ovins, des caprins et des chevaux. Ils sont tous de races rustiques et peuvent supporter d'importantes variations de températures annuelles et journalières. Ils ont également une forte capacité à accumuler des réserves de graisses pour affronter l'hiver. Les productions issues de chaque troupeau sont extrêmement variées et permettent de couvrir un grand nombre de besoins de la famille : viande, lait et produits laitiers, peaux et poils. Les bovins et équins sont aussi utilisés pour le transport. Les productions issues du bétail sont prioritairement autoconsommées. Seules les productions supplémentaires sont utilisées pour les échanges, monétaires ou sous forme de troc.

Les ovins sont généralement traités mais leurs produits laitiers sont uniquement destinés à la consommation familiale et ne font pas l'objet d'échanges. Les éleveurs vendent trois au quatre animaux par an aux marchands de bestiaux pour répondre à des besoins ponctuels d'argent liquide ou d'autres denrées. Ils sont tondus tous les ans mais la laine est directement vendue, et les exploitations qui fabriquent encore elles-mêmes du feutre sont rares.

Les produits laitiers des caprins sont eux aussi peu valorisés. Par contre, avec l'ouverture de l'économie mongole aux marchés mondiaux, le prix intérieur du cashemere a bénéficié des cours internationaux à la hausse, faisant de cette production un revenu monétaire non négligeable pour les familles. Le cachemire est un duvet récolté sur les animaux par peignage en avril, après la période de grand froid. Il est largement exporté et représente environ 60% des revenus des éleveurs.

Les chevaux, eux, restent pâturer loin des stations (sauf pour les hongres montés) et ne sont que rarement rassemblés dans les abris ou les enclos. Par conséquent les taux de petits sevrés et de petits survivant au premier hiver restent faibles (0,5 à 0,3). On traite parfois quelques juments, pour la fabrication de l'*airag* (lait fermenté).

Les troupeaux bovins et leurs produits (viande et produits laitiers) restent au centre du système d'élevage et de l'alimentation des familles. Ils sont composés de vaches et de yaks, en proportions variables suivant les régions. Leur reproduction n'est que rarement supervisée, mais les femelles sont naturellement saisonnées et la période de reproduction s'étend de mi-juillet à fin août, avec des mises bas qui ont donc lieu en avril et mai et une lactation qui dure jusqu'à la fin de l'été. Le nombre de petits sevrés par an et par mère s'élève à 0,7. Le nombre de petits qui survivent au premier hiver est lui de 0,6 par mère. Les productions sont surtout le lait et la viande, qui sont vendus quasiment exclusivement à l'intérieur du pays, en raison d'une absence de stratégie d'exportation de la part du gouvernement et d'un manque d'infrastructures autorisant une mise aux normes internationales d'hygiène des denrées animales.

b) Le système de santé animale

AVANT 1999 [7, 17]

Les Services Vétérinaires Nationaux mongols dépendaient du Ministère de l'Agriculture et de l'Industrie. En 1999 ils étaient organisés comme suit :

- Le Service de l'Inspection, qui compte sept vétérinaires au niveau central, 24 dans les aimags, et 107 dans les sums, est responsable pour l'Agence de Réglementation de l'Agriculture en terme de structure. Il est dirigé par un inspecteur chef vétérinaire.

- Les Services Vétérinaires aux propriétaires de bétail, maintenant privatisés, comptent 885 vétérinaires, 1553 assistants vétérinaires et 665 assistants. Ils sont chargés de la prévention des maladies, de donner des conseils aux éleveurs, des tests et des soins cliniques. Ils sont dirigés par un Officier Chef Vétérinaire.

- Les laboratoires de diagnostic : un Laboratoire Central de Diagnostic Vétérinaire, qui est le laboratoire de référence et qui produit les réactifs, et 19 laboratoires régionaux dans les centres aimags.

- Un laboratoire de Contrôle Qualité Vétérinaire, qui contrôle les antigènes utilisés pour les Test Rose Bengale produits par Biocombinat.

- Une école vétérinaire, le Mongolian Veterinary College, d'où sortent 90 étudiants par an, après un doctorat en cinq ans, avec un taux de réussite de 90%.

Les autres services sont la production biologique, l'institut de recherche...

DEPUIS 1999 [11, 12]

Les Services Vétérinaires Nationaux dépendent maintenant du Ministère de l'Alimentation et de l'Agriculture et les services centraux sont basés dans les locaux du ministère à Ulaanbaatar. Il existe aussi des services vétérinaires décentralisés dans chaque district, qui dépendent de l'administration provinciale (département de l'alimentation et de l'agriculture de la chancellerie). Des problèmes de communication et de flux d'informations entre ces différents niveaux entraînent malheureusement un manque d'efficacité.

Quant aux Services Vétérinaires Privés, ils existent depuis avril 1999 et souffrent d'un manque important de médicaments modernes, de vaccins et d'infrastructures. Les vétérinaires privés sont en fait contractés avec l'état pour deux ans, renouvelables si leur travail est satisfaisant. En moyenne, un vétérinaire est en charge d'un ou deux *bags* (plus petite subdivision administrative) : il y réalise les campagnes de vaccination/prévention et est parfois appelé pour des consultations. Les revenus de ces vétérinaires viennent pour une large part de la vente de médicaments, et pour l'autre part de l'état, qui leur paye des honoraires pour les prophylaxies obligatoires.

En 2004, un recensement du personnel vétérinaire mongol effectué par l'Office International des Epizooties a fourni les résultats suivants.

	Activité	Nombre
VETERINAIRES	Vétérinaires de l'administration (Etat et collectivités locales)	398
	En laboratoire, universités, institutions d'enseignement	170
	Praticiens privés	767
	TOTAL	1335
AGENTS TECHNIQUES	Techniciens en santé animale (formation spécifique)	482
	Infirmiers ou vaccinateurs	0
	Agents d'hygiène alimentaire, y compris inspecteurs des viandes	60
	TOTAL	542

Tableau 1 : Recensement du personnel vétérinaire mongol en 2004

(Source : OIE/ Outil Handistatus)

Le budget national pour les Services Vétérinaires est faible et la législation vétérinaire trop pauvre. La profession est limitée par la difficulté d'importer des produits pharmaceutiques ainsi que par l'absence de système d'identification des animaux (un système de bouclage était prévu pour 1990, dans le cadre du programme de surveillance de la brucellose, mais n'a pas été mis en place). La viande n'est actuellement exportée que vers la Russie, selon des voies de commercialisation privées, mais il n'existe aucun projet du gouvernement en faveur d'une commercialisation à grande échelle.

Les Services vétérinaires travaillent en collaboration avec le secteur de la santé publique en ce qui concerne la lutte contre les zoonoses. Or ce secteur a connu une forte réduction de budget en 1990, conduisant à un rationnement des services gouvernementaux de santé et au développement d'un secteur privé. Un système d'assurance maladie existe depuis 1993, et des lois d'assurance sociale ont été rédigées en 1995. Il dépend du Ministère de la Santé et du Bien-être Social, qui comporte des services de santé à quatre niveaux :

- *Bags* : 937 postes de soin
- *Sums* : 340 hôpitaux de sums
- *Aimags* et Villes : 31 hôpitaux d'aimags et de ville
- Central : 11 hôpitaux d'état et des centres spécialisés

Cependant, l'accès aux services de santé reste très difficile pour les populations rurales.

CHAPITRE 2 : LA BRUCELLOSE, UNE ZOONOSE MAJEURE

La brucellose est une maladie infectieuse contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'Homme, due à des bactéries Gram moins du genre *Brucella*. Il y a actuellement six espèces de *Brucella* connues : *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* et *Brucella canis*. Elles ont un haut degré d'homogénéité génétique et possèdent chacune plusieurs biovars. Une nouvelle espèce, *Brucella maris* ou *Brucella delphini*, a été découverte récemment chez les dauphins. Ces bactéries ont un tropisme génital qui conduit à des avortements.

La répartition de la brucellose est mondiale. Cependant, plusieurs pays en Europe centrale et du nord, ainsi que le Canada, le Japon, l'Australie et la Nouvelle Zélande sont considérés comme indemnes. C'est une maladie importante en raison de son aspect zoonotique et des conséquences économiques qu'elle engendre (pertes de production, entraves aux échanges commerciaux). Elle appartient pour cela à la liste des maladies prioritaires de l'Office International des Epizooties.

1. La brucellose animale : importance, étiologie, pathogénie, clinique et lésions [1, 6, 13]

a) Brucellose bovine

Due le plus souvent à *Brucella abortus*, elle touche les bovins ainsi que d'autres ruminants domestiques ou sauvages et sa clinique est caractérisée par des troubles de la reproduction. Présente à l'échelle mondiale, certains pays en sont toutefois indemnes en Europe, grâce à une lutte efficace.

IMPORTANCE

Son importance économique vient du fait qu'elle provoque des avortements, de la stérilité et des pertes de lait, parfois de manière épizootique. De plus, elle a de sévères répercussions sur les échanges commerciaux, et les mesures à mettre en place pour son éradication ont un coût important. Les graves pertes engendrées pour l'élevage ont mené à la mise en place de programmes de contrôle puis d'éradication dans beaucoup de pays.

Son importance hygiénique repose sur son aspect zoonotique.

Ainsi, elle est inscrite en France sur la liste des maladies réputées contagieuses et la liste des vices rédhibitoires, et à l'Office International des Epizooties sur la liste des maladies prioritaires.

ETIOLOGIE

La bactérie responsable de la maladie est généralement *Brucella abortus*, qui possède neuf biovars différents. Lorsque le bétail est gardé en étroite association avec les petits ruminants, des cas de brucellose bovine à *Brucella melitensis* peuvent apparaître. Enfin, de très rares cas impliquent *Brucella suis*, qui peut entraîner une infection des glandes mammaires mais ne semble pas être responsable d'avortement.

Ces bactéries appartiennent à la classe des Gram négatifs et sont intracellulaires facultatives. Ce sont des petits coccobacilles de 0,6 à 1,5 micromètres de long sur 0,5 à 0,8 de large, immobiles, non sporulés, sans flagelles ni pili, et aérobies stricts. Elles sont généralement isolées, ou moins fréquemment par paires ou petits groupes.

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

PATHOGENIE

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

- Période primaire : Suite à la contamination, il y a d'abord une multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation, où les bactéries peuvent persister pendant très longtemps. Ensuite, si les *Brucella* ne sont pas éliminées, il se produit une dissémination, par voie lymphatique et dans une moindre mesure par voie sanguine. L'animal présente alors une bactériémie qui peut mener à l'infection de nombreux tissus: tissus lymphoïdes (surtout les nœuds lymphatiques de la sphère génitale), placenta des femelles gravides, testicules et leurs annexes, glande mammaire, bourses séreuses et synoviales, et certaines articulations. Parfois, des manifestations cliniques se déclarent alors, caractéristiques de la brucellose aiguë: avortement, orchite...

- Période secondaire : Elle est marquée par un état de résistance de l'hôte, grâce au développement d'une immunité, qui ne mène que rarement à la guérison. En effet, les *Brucella* peuvent survivre plusieurs années dans certains sites, comme dans les nœuds lymphatiques, demeurant à l'intérieur des cellules phagocytaires, à l'abri du complément et des anticorps. Leur réactivation est possible à chaque gestation, entraînant alors un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise bas. Lorsque des bactéries persistent au niveau des séreuses et des articulations, un hygroma ou une arthrite chronique peuvent se développer.

L'avortement est le plus souvent provoqué par une placentite exsudative et nécrotique, due à la multiplication des bactéries dans l'espace utéro-chorial. En effet, cette inflammation entraîne un décollement utéro-chorial, ainsi que des adhérences fibreuses entre l'utérus et le placenta. Lorsque ces lésions sont étendues, elles empêchent donc les échanges nutritifs et le fœtus meurt d'anoxie, engendrant l'avortement. Si elles sont plus limitées, l'infection placentaire autorise alors la survie du fœtus, mais le nouveau-né meurt généralement dans les 48 heures après la mise bas, à cause de lésions cérébrales d'origine hypoxique. Enfin, les adhérences utéro-placentaires sont souvent responsables de rétentions placentaires chez les femelles infectées.

Parfois, l'avortement est dû à des bactéries passant dans le liquide amniotique, et ingérées par le fœtus, provoquant une septicémie mortelle

Une femelle infectée n'avorte en général qu'une fois (dans 80% des cas), mais elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions génitales au cours des vêlages suivants.

Certaines vaches non gestantes peuvent résister à l'infection, grâce à la survie de *Brucella abortus* dans le compartiment intracellulaire des macrophages. Beaucoup de ces vaches développent alors des réactions sérologiques transitoires de faible amplitude, signant une absence de stimulation antigénique continue. Ces animaux sont donc dangereux car sans anticorps spécifiques mais porteurs de bactéries. En fait, 2,5 à 9 % des jeunes femelles peuvent être infectées in utero et ne présenter de symptômes que lors d'une gestation ultérieure. Le fœtus bovin est lui très sensible à l'infection.

La réponse immunitaire des animaux est à la fois humorale et à médiation cellulaire. Le lipopolysaccharide étant un antigène « T-indépendant », ce qui n'est pas le cas de la majorité des protéines, les anticorps dirigés contre lui n'ont pas besoin d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire pour être synthétisés.

La réponse humorale est identique chez toutes les espèces animales infectées. Elle est dirigée principalement contre l'antigène majeur de *Brucella abortus*, à savoir la chaîne O de son lipopolysaccharide. Ces anticorps anti-LPS induisent une lyse bactérienne, par la voie classique du complément ainsi que par opsono-phagocytose. Une réponse se développe aussi contre des protéines de la membrane extérieure, du périplasma, et du cytoplasme, mais plus tardivement.

La réponse cellulaire est elle dirigée exclusivement contre des protéines bactériennes. Elle se déroule en quatre étapes : les macrophages infectés produisent des cytokines ; puis les lymphocytes précurseurs se différencient en lymphocytes de type 1 ; ces lymphocytes 1 se divisent en lymphocytes « helpers » CD4+ et cytotoxiques CD8+ ; et enfin l'interféron gamma produit par ces deux lymphocytes induit la destruction de la bactérie.

Chez le bovin pubère, les anticorps sont détectables de 30 jours à 3-6 mois après l'infection, et parfois durant toute la vie de l'animal. Les délais d'installation de l'hyper sensibilité retardée spécifique sont les mêmes.

NB : le déroulement de l'infection par *Brucella abortus* est similaire chez les yaks (*Bos grunniens*) et les chameaux (*Camelus bactrianus*).

CLINIQUE

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

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

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

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

NB : Les manifestations cliniques sont identiques chez les yaks et les chameaux.

LESIONS

Seules les altérations histopathologiques sont assez spécifiques, mais elles sont variables et inconstantes dans les organes.

Une lymphadénite locale est systématique, avec hyperplasie lymphoïde, accompagnée d'une infiltration importante de cellules mononuclées et de quelques granulocytes neutrophiles et éosinophiles.

Sur l'utérus, on peut observer une endométrite, évoluant de la forme aiguë vers la forme chronique. Un exsudat gris sale, consistant ou visqueux, y est en quantité variable, chargé de flocons purulents plus ou moins gros. Les cotylédons de la matrice sont nécrotiques, gris jaunâtres, et recouverts d'un exsudat collant, sans odeur et brunâtre. Quant au placenta inter cotylédonaire, il est peu altéré : épaissi par endroits, il peut être oedémateux, et recouvert d'exsudat.

Chez l'avorton, un oedème sous cutané important se développe, les cavités splanchniques sont remplies d'un exsudat séro-sanguinolent, et on observe parfois des lésions de pleuropneumonie.

Au niveau du pis, il n'y a pas de lésions macroscopiques, mais les nœuds lymphatiques supramammaires sont hypertrophiés.

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

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

b) Brucellose ovine et caprine

Due le plus souvent à *Brucella melitensis*, elle affecte les organes de la reproduction. Il faut bien distinguer la brucellose ovine due à *Brucella melitensis* de l'« épидидymite contagieuse du bélier », qui est causée par *Brucella ovis*.

Elle est moins répandue dans le monde que l'infection à *Brucella abortus*. Elle suit la répartition de l'élevage ovin, avec une forte présence sur le pourtour de la Méditerranée. Les pays d'élevage intensif comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande, et l'Afrique du sud en sont indemnes. En France, la prévalence est forte, surtout au sud du pays.

IMPORTANCE

Elle est d'abord hygiénique, en raison du fort pouvoir pathogène de la bactérie pour l'Homme, qui peut se contaminer par contact direct avec les animaux infectés ou par la consommation de lait et de fromages frais. Quant à son importance économique, elle tient aux pertes engendrées par les avortements et les cas de stérilité, ainsi qu'aux conséquences sur la commercialisation des produits. Elle provoque également une hausse du taux de mortalité périnatale, des morts chez les femelles, et une baisse des productions.

Elle est donc inscrite en France sur la liste des maladies réputées contagieuses et des vices rédhibitoires, et elle appartient à la liste des maladies prioritaires de l'Office International des Epizooties.

ETIOLOGIE

L'agent responsable de la maladie est *Brucella melitensis*, qui a trois biovars, et dont les caractéristiques antigéniques sont communes à celles de *Brucella abortus*.

Elle se cultive en 48-72h sur gélose et forme alors des colonies lisses, à l'inverse de *Brucella suis* et *Brucella canis* qui donnent des colonies rugueuses.

L'infection de petits ruminants par d'autres *Brucella* est possible mais elle reste sans retentissement clinique et ne permet pas de transmission entre les animaux.

PATHOGENIE

L'incubation dure 14 à 180 jours chez les petits ruminants, au cours desquels se produit la colonisation locale et régionale par les bactéries. Chez les femelles en gestation, les bactéries se multiplient alors dans le cytoplasme des trophoblastes du chorion (dans le réticulum endoplasmique granuleux).

Les étapes de l'infection sont identiques à celles de la brucellose bovine. Cependant, les ovins se débarrassent plus facilement et souvent des *Brucella* que les bovins : il se produit souvent une auto stérilisation des brebis en repos sexuel, en six mois à un an. Chez la chèvre, les signes cliniques sont pauvres voire absents, et la distribution de la bactérie dans l'organisme est très extensive, avec des animaux qui demeurent souvent infectés toute leur vie.

CLINIQUE

Il n'y a aucune atteinte de l'état général lors d'infection aiguë. Les formes inapparentes sont plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins. Une forme chronique asymptomatique existe chez les femelles, avec une colonisation du système lymphoréticulaire. Après une première réponse immunitaire, les symptômes et les anticorps disparaissent alors et les animaux restent porteurs asymptomatiques.

Les symptômes génitaux sont les plus fréquents, notamment l'avortement, qui a lieu surtout chez les femelles primipares, pendant le dernier tiers de gestation (40 à 90% des femelles). Dans 10-15% des cas, il se produit plusieurs avortements chez la même femelle. En cas de mise bas à terme, la mortalité périnatale est très forte dans les 24 heures suivant la mise bas. Si le petit survit, il peut devenir porteur chronique. La rétention placentaire est moins fréquente que chez les bovins, mais une stérilité temporaire est couramment observée chez les femelles infectées.

L'infection des mâles est généralement inapparente, avec parfois des orchites ou épидидymites.

Des mammites se déclarent parfois, et peuvent toucher beaucoup d'animaux, au stade clinique, avec des nodules inflammatoires et du lait grumeleux. Les arthrites et bursites sont rares chez les petits ruminants.

LESIONS

Les plus courantes sont des rétentions placentaires et des endométrites, plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins. Les femelles ayant avorté présentent souvent une métrite suppurative avec des suffusions hémorragiques sur les cotylédons, ainsi qu'une endométrite. Dans le placenta, on peut observer une infiltration gélatineuse jaunâtre, et des fausses membranes fibrineuses, localisées sur une partie ou généralisées.

EPIDIDYMITE CONTAGIEUSE DU BELIER

C'est une maladie due à *Brucella ovis*, touchant exclusivement les ovins, et qui se caractérise par l'évolution chez le bélier d'une inflammation chronique de l'épididyme aboutissant à une baisse importante de fertilité.

Elle est très largement répandue dans le monde, et son importance est uniquement économique, à cause de la baisse du taux de naissance qu'elle entraîne au niveau du troupeau.

L'inflammation est souvent localisée à la queue de l'épididyme, et est unilatérale dans 70% des cas. Une phase d'inflammation aiguë entraîne d'abord une altération de la qualité du sperme et une baisse de fertilité. Puis l'inflammation chronique provoque une induration d'évolution très lente de la queue de l'épididyme, engendrant à la longue sa déformation et s'accompagnant d'une baisse progressive de la fertilité. La guérison spontanée est exceptionnelle, et des complications infectieuses sont possibles. Chez la brebis, l'infection est souvent inapparente en raison du faible taux de multiplication des bactéries.

Les béliers infectés peuvent excréter le germe dans leur sperme pendant très longtemps et la transmission se fait par voie vénérienne le plus souvent. L'urine peut également être source de contamination.

Le diagnostic est réalisé par palpation de l'épididyme, en concordance avec les commémoratifs (baisse du taux de natalité). Au laboratoire, les bactéries peuvent être observées au microscope, dans le sperme ou les sécrétions vaginales. Les techniques sérologiques sont inutilisables (antigènes différents).

La lutte repose sur un combat de la maladie chez les béliers car les brebis seules ne peuvent pas maintenir l'infection. La vaccination est possible et efficace.

c) Brucellose des autres espèces animales

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

L'infection par *Brucella canis* entraîne une maladie infectieuse et contagieuse du chien, transmissible à l'Homme. Elle est responsable d'avortements contagieux et de stérilité chez les femelles, et d'orchite ou d'épididymite chez les mâles. Elle affecte uniquement le chien, ou parfois l'Homme et est présente dans de nombreux pays.

La **brucellose équine** est une maladie infectieuse et contagieuse, due à des bactéries du genre *Brucella*, transmissible à l'Homme et à de nombreuses espèces animales, caractérisée essentiellement sur le plan clinique par la présence de lésions suppuratives d'évolution chronique. Elle est non spécifique des équidés mais est transmise à partir d'autres espèces infectées. Elle concerne donc les chevaux entretenus à proximité d'un foyer de brucellose (bovins, petits ruminants). L'infection est souvent inapparente, mais quand la maladie atteint certaines localisations (mal du garrot) elle peut compromettre l'avenir du sujet. Il y a de plus un risque de contamination humaine.

Les chevaux sont peu sensibles à l'infection, ils développent une réponse sérologique faible et les anticorps disparaissent rapidement. La localisation génitale est exceptionnelle et les avortements sont donc très rares. L'infection est suivie d'une bactériémie qui peut provoquer une réaction fébrile. Ensuite, il peut persister des foyers bactériens localisés tout particulièrement à certaines bourses séreuses, gaines tendineuses ou articulations, et responsables alors d'une brucellose subaiguë localisée (bursite, synovite, arthrite...).

La transmission d'équidé à équidé est exceptionnelle mais reste possible. Certaines causes prédisposent à l'infection, comme un travail intense, ou des traumatismes lésant les bourses séreuses ou les synoviales et favorisant la localisation des *Brucella*. Cela reste une maladie sporadique, affectant surtout les chevaux de ferme.

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

2. La brucellose zoonose [1, 6, 13]

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

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

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

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

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

L'évolution est possible sur plusieurs semaines ou mois, et des complications peuvent apparaître, comme des encéphalites, névrites périphériques, arthrites suppurées, endocardites végétantes... La mortalité est négligeable.

La forme chronique dure quant à elle plusieurs années, sans foyer d'infection localisée.

Il existe enfin des réactions d'allergie à *Brucella abortus*, provoquant des lésions cutanées papuleuses ou pustuleuses sur les mains.

Les méthodes globales de prévention sont : la pasteurisation du lait, la vaccination du bétail, et l'élimination des animaux infectés. De plus, pour les professionnels, le port de protections est indispensable lors de la manipulation d'avortons, de placentas et de tout produit issu du tractus génital femelle. Plus généralement, tout contact avec des animaux suspects de brucellose doit être évité.

Le traitement repose sur une double antibiothérapie avec doxycycline et rifampicine (ou streptomycine) pendant six semaines. On observe alors environ 5% de rechutes pour les meilleurs protocoles.

SYNTHESE

	Brucellose Bovine	Brucellose Ovine	Epidimyte contagieuse du bélier	Brucellose Caprine	Brucellose Equine	Brucellose Canine	Brucellose Humaine
Agent principal	<i>Brucella abortus</i>	<i>Brucella melitensis</i>	<i>Brucella ovis</i>	<i>Brucella melitensis</i>		<i>Brucella canis</i>	<i>Brucella melitensis</i>
Agent occasionnel	<i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i>		<i>B.abortus</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.suis</i> <i>B.canis</i>
Importance économique	Forte : avortements, chutes de production	Forte : avortements, chutes de production	Moyenne : baisse du taux de natalité du troupeau	Forte : avortements, chutes de production	Moyenne : inaptitude au travail	Faible	Forte : traitement et prévention coûteux
Importance hygiénique	Forte : zoonose	Forte : zoonose	Nulle	Forte : zoonose	Forte : zoonose	Forte : zoonose	Forte : zoonose
Symptômes majeurs	Avortement, mortalité périnatale, rétention placentaire	Avortement, mortalité périnatale, stérilité temporaire	Inflammation de la queue de l'épididyme, baisse de la fertilité	Souvent asymptomatique Avortement, mortalité périnatale, stérilité temporaire	Lésions suppuratives chroniques	Avortement et stérilité avec <i>B.canis</i> . Souvent inapparente avec autres <i>Bucella</i>	Douleurs musculaires et articulaires, fièvre...
Symptômes mineurs	Infécondité temporaire Arthrites, bursites	Rétention placentaire Mammites, arthrites, bursites		Rétention placentaire Mammites, arthrites, bursites	Avortement		Avortement

Tableau 2 : Comparaison des principales caractéristiques des brucelloses

3. Epidémiologie de la brucellose [1, 6, 13]

a) Brucellose bovine

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

L'infection des bovins par *Brucella melitensis* provoque une maladie identique.

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

Les **matières virulentes** les plus importantes sont le contenu de l'utérus gravide, expulsé pendant l'avortement ou la mise bas, avec une excrétion qui débute dès la liquéfaction du bouchon muqueux obturant le col et qui disparaît généralement deux ou trois semaines après l'expulsion du fœtus. Les sécrétions vaginales et l'urine peuvent également être virulentes. Et enfin, il existe une excrétion transitoire (quelques jours après la mise bas) et discrète de bactéries dans le lait et le colostrum (surtout importante après un avortement).

Chez le mâle, il peut y avoir une excrétion de *Brucella* dans le sperme.

Des bactéries sont parfois présentes dans les produits de suppuration (hygromas), dans les fèces (jeunes nourris avec du lait infecté), et dans les viscères infectés (contamination humaine).

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

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

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

Quant à la transmission horizontale, elle peut être directe par contacts lors de cohabitation, ou par ingestion (d'eau, de nourriture, de colostrum ou de lait contaminés) ou encore par voie vénérienne, lorsque les taureaux excrètent des bactéries dans leur sperme. Elle peut également avoir lieu de manière indirecte par l'intermédiaire de locaux, pâturages, aliments, eaux et matériels, ou par léchage de placentas, avortons ou appareils génitaux.

La pénétration de la bactérie se fait donc par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive ou vénérienne.

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

EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

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

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

Il semble que l'intensification de l'élevage soit un facteur favorisant l'extension de la maladie.

L'existence d'un réservoir dans la faune sauvage est difficile à évaluer (la bactérie a été isolée chez le buffle d'Afrique du sud).

b) Brucellose des petits ruminants

Les **espèces affectées** sont le plus souvent les ovins et les caprins, qui sont hôte principal, mais *Brucella melitensis* peut aussi infecter les bovins, d'autres ruminants domestiques et sauvages, les suidés, les équidés, les carnivores et les rongeurs. La réceptivité des animaux varie avec l'âge (c'est une maladie des adultes) et la race.

Les **sources de contagion** sont les ovins et caprins malades ou infectés, surtout pendant l'agnelage, et parfois d'autres espèces animales infectées.

Le bélier et le bouc peuvent jouer un rôle important dans la dissémination et la persistance de l'infection car ils sont souvent porteurs. La persistance du germe dans l'environnement joue aussi un rôle important.

Les **matières virulentes** les plus importantes sont le placenta et le contenu de l'utérus gravide, ainsi que le fœtus né à terme.

L'excrétion de bactéries dans les écoulements vaginaux peut également durer plus d'un an chez les chèvres ayant avorté, de façon intermittente et irrégulière, mais avec une excrétion toujours abondante pendant trois mois. Chez la brebis, cette excrétion ne dure que deux mois et est en quantité moindre.

L'urine peut se contaminer lors du passage par la vulve.

L'invasion de la mamelle se produit parfois, avec une persistance des bactéries chez les femelles des générations suivantes.

Les **modes de transmission** et les voies de pénétration sont les mêmes que pour la brucellose bovine. La transmission par voie vénérienne est due aux bactéries souvent présentes dans le sperme, ou alors se produit par voie mécanique lors de plusieurs coïts de suite. Une transmission par les fèces, la sueur ou le jetage est parfois possible.

Une contamination directe peut se produire, par contact avec le fœtus et les annexes foetales, à travers la muqueuse de l'appareil digestif ou respiratoire ou encore à travers la conjonctive. Elle peut résulter aussi d'une infection par la peau, en cas de grosses lésions cutanées. Et enfin, l'inhalation de bactéries est possible, dans les bâtiments fermés ou sur les terrains secs (poussière infectée).

La contamination indirecte se produit par ingestion d'aliment ou d'eau contaminés.

Lors de transmission verticale, il y a persistance des bactéries chez les nouveaux nés, sans excrétion d'anticorps jusqu'à la première gestation.

EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

La contamination des cheptels indemnes se fait surtout par la transhumance, ainsi que par les échanges commerciaux et le prêt des béliers ou des boucs. Elle est aussi possible par des pâtures ou des bergeries contaminées.

L'extension de l'infection dans les troupeaux a lieu au cours de deux périodes préférentielles : l'époque de la lutte (rôle des mâles) et la période des mises bas.

En milieu initialement indemne, les avortements sont nombreux la première année (50-90% des femelles), puis plus rares l'année suivante, et disparaissent ensuite. Mais l'infection persiste et les avortements réapparaissent au bout de quelques années, avec l'augmentation du nombre d'animaux sensibles, d'où un aspect cyclique de la maladie.

Dans les régions anciennement infectées, on observe une brucellose latente sans symptômes, ou avec des avortements isolés ou en petites flambées cycliques.

Généralement, des cycles d'avortements ont lieu tous les 4-5 ans dans le troupeau, lors d'introduction de jeunes femelles primipares (car les femelles n'avortent qu'une fois). La diffusion de la maladie se fait par échanges commerciaux, introduction de femelles malades en gestation, prêt de géniteurs, achat de jeunes infectés asymptomatiques, concours, expositions, fêtes...

Certains animaux sont résistants à l'infection, d'autres peuvent faire une auto-limitation de la maladie, ou encore présenter une maladie latente, ou enfin réaliser une auto-guérison.

4. Les techniques de diagnostic [1, 6, 9, 13, 19]

a) Diagnostic épidémiologique

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

Une suspicion de brucellose bovine peut être émise lors de : avortement isolé ou en série, mort d'un veau en anoxie dans les 48h après la mise bas, fréquence anormale des rétentions placentaires, hygromas, et orchite/épididymite chez le mâle.

Pour les petits ruminants, un troupeau est suspecté de brucellose lors d'avortements en phase terminale de gestation, de mortalité post natale, ou d'atteinte des organes génitaux mâles.

Enfin, des symptômes chez l'Homme tels que de la fièvre, des boiteries, des douleurs musculaires... doivent également entraîner une suspicion de brucellose.

b) Diagnostic expérimental

Les **prélèvements** les plus souvent utilisés pour le diagnostic de laboratoire sont : des calottes placentaires, du liquide utérin, l'avorton lors d'un avortement, ou du sang. On utilise aussi parfois du colostrum, du sperme, des sécrétions vaginales, ou du tissu et des noeuds lymphatiques.

Le dépistage est possible à partir de sang sur tube sec ou de lait de mélange récolté dans le tank.

• DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Il est réalisé par examen microscopique avec colorations, ou par culture en milieu sélectifs, permettant une identification de genre et espèce. Les échantillons les plus intéressants pour sa réalisation sont : des cotylédons issus du placenta, des excréments vaginales, ou du poumon, foie et contenu abomasal du fœtus.

Ces prélèvements doivent être fixés avec la chaleur ou l'éthanol avant d'être colorés par les méthodes de Stamp, Köster, ou Macchiavello. L'observation d'agrégats intracellulaires permet alors d'émettre une suspicion de brucellose. Mais la morphologie de la bactérie est la même que celle de *Coxiella Burnetti*, *Chlamydomphila abortus* et des confusions peuvent avoir lieu. Ces bactéries sont résistantes à la décoloration par les acides faibles et apparaissent donc colorées en rouge sur fond bleu par la coloration de Stamp.

Cependant, ces méthodes de coloration ont une faible sensibilité lorsqu'elles sont réalisées sur le lait ou les produits laitiers, où les *Brucella* sont souvent présentes en faible nombre et où l'interprétation est rendue difficile par la présence de globules gras. Toute coloration, positive ou non, doit donc être confirmée par une mise en culture.

Un isolement et une mise en culture de *Brucella* peuvent être réalisées sur milieux solides classiques, qui limitent la formation de mutants « rough » et le développement de contaminants. Cependant, il est recommandé d'utiliser des milieux liquides pour les échantillons volumineux ou pour pratiquer un enrichissement. Les milieux les plus utilisés sont le « Trypticase-Soy Agar » ou le « Serum Dextrose Agar ».

La culture sur milieu sélectif permet d'éviter la croissance d'autres espèces de bactéries. Le plus utilisé est le milieu de Farrell, qui est préparé par addition de six antibiotiques à un milieu de culture classique. Un enrichissement peut être pratiqué lorsque la culture est réalisée à partir de prélèvements pauvres en bactéries, comme le lait ou le colostrum.

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

L'identification d'espèce et le biotypage peuvent être réalisés grâce à des techniques de phago-lyse et sur culture bactérienne, à partir de critères biochimiques et sérologiques. Une technique de PCR récemment mise au point permet également la détection et l'identification de *Brucella*, et plusieurs techniques moléculaires, comme la PCR, la RFLP, et le Southern Blot permettent de différencier les espèces de *Brucella* et certains de leurs biovars.

Les souches vaccinales sont identifiables par certaines techniques bactériologiques (milieux sélectifs), ainsi que par PCR (mais son intérêt est limité).

- DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

Le diagnostic et le dépistage sérologiques sont très utilisés, sur sérum ou lait. Les anticorps détectés sont ceux dirigés contre les épitopes du LPS, ce qui entraîne des problèmes de parenté entre *Brucella abortus* et d'autres bactéries. En effet, lorsque la prévalence est faible, la valeur prédictive de ces tests diminue car beaucoup de faux positifs apparaissent, notamment à cause d'une réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica*. De plus, l'intensité et la durée de la réponse humorale sont très variables en fonction des individus et des doses infectieuses, avec aussi des variations qualitatives. La période la plus efficace pour réaliser ce test chez les petits ruminants est le post-agnelage, puisque les titres en anticorps sont alors très élevés. Mais aucun de ces tests ne détecte tous les animaux infectés.

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux définis par l'Office International des Epizooties, et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits. Ainsi, pour la production d'antigènes de diagnostic, seules les souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *Brucella abortus* peuvent être utilisées. Ces souches doivent être complètement « smooth » et ne doivent pas agglutiner en milieu salin. Elles doivent provenir de cultures pures et se montrer conformes aux caractéristiques de *Brucella abortus* biovar1 d'indépendance vis-à-vis du CO₂.

* Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) = Test Rose Bengale

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

Selon les normes de l'Office International des Epizooties, l'antigène pour le test au Rose Bengale est préparé en récupérant par centrifugation des souches 99 de *Brucella abortus* tuées, et en les remettant en suspension dans du phénol salin. Pour chaque 35 mL de cette suspension, on rajoute 1 mL de Rose Bengale à 1 % dans de l'eau distillée ; et le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré et centrifugé pour recueillir les cellules colorées, remises en suspension au taux de 1g de cellules pour 7 mL de diluant (hydroxyde sodique, phénol, acide lactique). La couleur de cette suspension doit être rose intense, et le surnageant doit être sans colorant. La suspension est de nouveau filtrée à plusieurs reprises, puis conservée à l'obscurité et au frais.

Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*melitensis*, *suis*, *abortus*) sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 ±0,05). Le tampon acide permet d'augmenter la spécificité car l'activité agglutinante des immunoglobulines G augmente en pH acide (le Test d'Agglutination de plaque, présenté page 45, utilise également un antigène brucellique tamponné). C'est une des méthodes les plus faciles à mettre en œuvre et la plus largement utilisée pour la mise en évidence des anticorps brucelliques dans les sérums.

L'antigène et le sérum à analyser sont mélangés à volumes égaux, et après 4 minutes de contact, la présence d'anticorps se traduit par la formation d'agglutinants visibles à l'œil nu. Si il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le mélange reste homogène.

Le mode opératoire est le suivant :

- Placer l'antigène et les sérums à température ambiante (18-23°C), 30 à 60 minutes avant le début du test
 - Sur une plaque, déposer 30 µL de chacun des sérums à tester
 - Agiter doucement le flacon d'antigène
 - Déposer 30 µL d'antigène coloré à côté de chacun des sérums
 - Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum
 - Agiter la plaque pendant quatre minutes exactement et lire immédiatement
- Il est préférable d'avoir un témoin positif (sérum infecté) et un témoin négatif.

Pour l'interprétation, une absence d'agglutination signifie qu'il n'y a pas d'anticorps dans le sérum, tandis que l'existence d'une agglutination, aussi minime soit elle, signale la présence d'anticorps anti-*Brucella*.

Ce test est très sensible, en particulier chez les animaux vaccinés. En effet, le vaccin peut provoquer une forte réponse en anticorps, et interférer alors avec les tests sérologiques. Des faux négatifs peuvent apparaître, et seront détectés en renouvelant le test à au moins trois mois d'intervalle.

Simple et rapide, ce test est donc surtout utilisé en dépistage. Une fixation du complément ou une ELISA sont ensuite nécessaires pour confirmer les positifs ou douteux. Pour les petits ruminants, c'est le test le plus utilisé en dépistage, avec une sensibilité de 90 % et une détection des anticorps plus précoce que pour la fixation du complément.

Cependant, la sensibilité de ce test peut beaucoup varier en fonction de la situation épidémiologique de la maladie.

* Epreuve de l'anneau sur le lait = Ring Test

C'est une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait dirigés contre le LPS bactérien avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Les agglutinats colorés sont adsorbés sur les globules gras et se regroupent en surface dans l'anneau de crème.

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), et colorée à l'hématoxyline. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, sans être congelé.

Selon les normes de l'Office International des Epizooties, la production de cet antigène se fait à partir d'une suspension de souches 99 de *Brucella abortus* tuées, centrifugée puis remise en suspension dans une solution d'hématoxyline colorant. Après avoir reposé 30 minutes à température ambiante, le mélange violet est additionné de 940 mL de sulfate d'ammonium aluminium à 10%. La solution doit être gardée à température ambiante pendant 45-90 jours. Avant utilisation, la solution est mélangée et filtrée. La solution finale a une concentration de un gramme de cellules pour 30 mL de colorant et est conservée 48h à température ambiante. Elle est ensuite re-centrifugée et lavée trois fois, pour avoir un pH de 3.0. Les bactéries sont finalement remises en suspension au taux de 1 gramme pour 27 mL de diluant (phénol, acide citrique, hydrogène phosphate disodique), et filtrées une dernière fois.

Permettant la mise en évidence des anticorps brucelliques dans le lait, cette technique est très simple et bien adaptée à la surveillance épidémiologique des cheptels laitiers.

Le mode opératoire est le suivant :

- Placer l'antigène une heure à température ambiante (18-23°C) avant le début des tests
- Agiter avec soin l'antigène au moment de l'emploi
- Homogénéiser les laits à tester par agitation (après les avoir conservés au moins 24h à +4°C), puis les répartir en tubes de 1 mL (il faut du lait non dilué pour analyser du lait de mélange, et du lait dilué de 1/1 à 1/16 dans un lait négatif pour analyser du lait individuel). La taille de la colonne de lait dans le tube doit être d'au moins 25 mm. Les échantillons de lait ne doivent pas avoir été congelés, chauffés ou violemment remués.
- Ajouter 50 µL d'antigène
- Mélanger soigneusement
- Incuber une heure à l'étuve à 37°C, puis 18 à 20h entre +2 et +8°C
- Effectuer la lecture (une incubation de toute une nuit à 4°C augmente la sensibilité du test et permet une lecture plus facile)

Il est préférable d'avoir comme témoins un lait positifs et un lait négatif.

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

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

* Séro-agglutination de Wright

C'est une technique d'agglutination lente en tubes. Des dilutions de sérum à titrer sont mises en présence de quantités constantes d'antigènes brucelliques, puis ces dilutions sont mises à incuber une nuit à 37°C.

Lorsque le sérum est positif, il se forme des complexes antigène/anticorps qui précipitent en formant un culot, tandis que le surnageant devient transparent. Lorsque le sérum est négatif, le mélange réactionnel reste opaque.

Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu comme test de référence par les organismes internationaux.

* Fixation du Complément

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

Le protocole est le suivant :

- Des dilutions successives du sérum inactivé sont mises en présence de concentrations constantes d'antigène brucellique ainsi que de complément titré, puis le tout est mis à incuber, au chaud ou au froid.
- Les anticorps éventuellement présents dans le sérum analysé forment des complexes antigène/anticorps, propres à fixer le complément (si il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le complément reste libre).
- La présence de complément libre est mise en évidence par addition d'un complexe hémolytique : globules rouges de mouton + sérum hémolytique correspondant.

Si des anticorps spécifiques de *Brucella abortus* sont présents, il y a absence d'hémolyse, tandis qu'en l'absence de ces anticorps, une hémolyse se produit.

Il est indispensable de mettre en place différents témoins pour pouvoir interpréter les réactions : un témoin sérum, un témoin antigène, un témoin complément et un témoin globules rouges.

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

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

* Epreuve de l'antigène BPA (Buffered Plate Agglutination)

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

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

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

* ELISA (Enzyme Like Immuno Sorbent Assay):

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

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

L'ELISA indirecte est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des vaccinés et est donc plutôt utilisé en dépistage. Tandis que l'ELISA de compétition est lui très spécifique, et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux du vaccin S19. On l'utilise donc pour la confirmation sur des animaux vaccinés.

* Fluorescence Polarisation Assay

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

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

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

Test	Sensibilité	Spécificité	Immuno-globulines détectées	Distinction vaccinés/malades	Coût	Faisabilité
EAT	+++ selon situation épidémiologique	+++	IgM IgG1 IgG2	NON	Faible	Facile : peut se faire sur le terrain
Ring Test	+++ selon la taille du troupeau	++	IgG	OUI généralement	Faible	Assez facile, mais nécessite une étuve
Séro-agglutination de Wright	++	+	IgG2	NON	Faible	Facile
FC	+++	+++++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Complicé et nécessite matériel de pointe
BPA	+++	+++	IgG	NON	Faible	Plus compliqué que EAT pour résultats équivalents
ELISA indirecte	+++++	+++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Difficile
ELISA de compétition	+++	+++++	IgG1 IgG2	OUI	Elevé	Difficile
FPA	+++	+++++		OUI	Moyen	Facile, faisable sur le terrain, mais nécessite matériel spécifique

Tableau 3 : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique

En conclusion, selon les recommandations de l'Office International des Epizooties, le test Rose Bengale, le BPAT (Buffered Plate Agglutination Test), l'ELISA et le test en lumière polarisée sont des bons tests de dépistage. Mais les positifs doivent toujours être confirmés en raison de leur manque de spécificité.

Le test de séro-agglutination est considéré comme non satisfaisant pour des fins de commercialisation. Le test de fixation du complément est plus spécifique et a un système standardisé d'interprétation quantitative. Les performances de l'ELISA et du test en lumière polarisée sont quand à elles comparables ou meilleures que celles du test de fixation du complément, et comme ils sont plus simple techniquement, ils devraient être utilisés en priorité.

Dans les autres espèces animales, comme les buffles, les bisons d'Europe et d'Amérique, les yaks, les wapitis et les chameaux, les même procédures sérologiques peuvent être utilisées (puisque la pathogénie est identique), mais chaque test doit être validé pour l'espèce animal étudiée.

- DIAGNOSTIC ALLERGIQUE

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

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

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

5. Les méthodes de surveillance et de lutte [1, 6, 13, 19]

a) Traitement

Brucella abortus étant sensible aux antibiotiques, notamment à la tétracycline, le traitement est théoriquement possible. Mais il est interdit en raison de son coût très élevé, des risques d'apparition de résistance, et de l'absence de garantie quant au statut infectieux d'un animal traité.

b) Prophylaxie sanitaire

Elle consiste en un assainissement des cheptels bovins infectés et une protection des cheptels indemnes.

Elle comporte d'une part la prise de mesures offensives :

- Dépistage des animaux infectés (persistance parfois toute la vie), et isolement de ceux-ci, puis leur élimination rapide vers la boucherie
- Élimination des jeunes femelles nées de mère infectée
- Contrôle de toutes les espèces réceptives et élimination des infectés
- Utilisation de l'insémination artificielle, pour limiter la transmission vénérienne
- Isolement strict des animaux infectés, surtout lors de mise bas, dans un local facile à désinfecter, et mesures de désinfections adaptées (destruction du placenta, traitement des fumiers...)

...et d'autre part des mesures défensives :

- Introduction de bovins certifiés indemnes, avec quarantaine et contrôle individuel par sérologie
- Maintien du cheptel à l'abri des contaminations de voisinage
- Hygiène de la reproduction : monte publique ou insémination artificielle
- Désinfections périodiques des locaux
- Isolement des parturientes et destruction des placentas
- Contrôle régulier des cheptels

Pour les petits ruminants, l'assainissement des troupeaux infectés repose sur l'isolement et l'élimination précoce de tous les ovins reconnus infectés, ainsi que sur la destruction du germe éventuellement présent dans l'environnement. Le résultat sera définitif uniquement si le taux d'infection est faible, avec un renouvellement fréquent des contrôles, et un cheptel à l'abri de contaminations extérieures. Si ces conditions ne sont pas réunies, la seule solution est l'élimination en bloc du troupeau.

Quand à la protection des troupeaux indemnes, elle demande de contrôler les introductions et la transhumance (interdite pour les troupeaux infectés), et de réaliser un contrôle sérologique et/ou allergique régulier des cheptels.

Dans les pays en développement où la prévalence de la maladie est élevée, il faut commencer par une lutte individuelle (vaccination, assurance), pour aller progressivement vers une lutte collective (vaccination, éradication). L'objectif est d'abord le **contrôle**, soit le maintien des coûts de la maladie à un niveau compatible avec la rentabilité économique, puis ensuite **l'éradication**, afin d'éliminer l'infection brucellique d'une région (elle est donc limitée dans le temps, à l'inverse du contrôle qui se poursuit à l'infini).

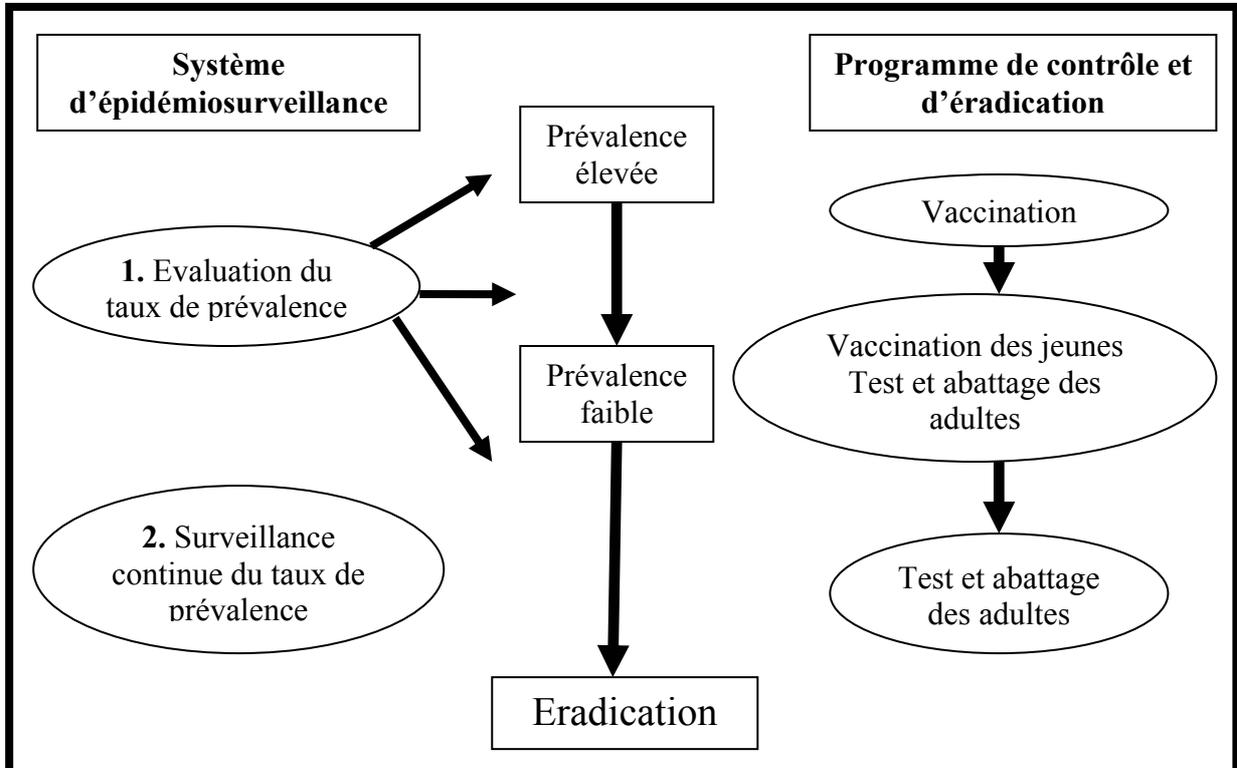


Figure 3 : Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose

Dans tous les cas, pour une prophylaxie sanitaire efficace, il faut utiliser une méthode de dépistage telle que les animaux infectés soient détectés avant d'avoir pu infecter d'autres animaux. La maladie étant asymptomatique pendant longtemps, le dépistage est donc basé sur la mise en évidence indirecte de l'infection, soit la présence d'anticorps, et le vaccin S19 complique cela.

Avec les tests sérologiques, les animaux seront « positifs » ou « négatifs », ce qui ne correspond pas forcément aux statuts « infectés » et « indemnes ». En général, dans une population où la prévalence relative est importante, la Valeur Prédictive Positive des tests sera plus élevée. Il faut donc faire des tests de contrôle sur les échantillons « positifs » au dépistage. On peut alors réaliser une interprétation en série : un sérum est considéré « infecté » quand il est positif aux différents tests de contrôle, et la spécificité sera alors très bonne. Ou bien on fait une interprétation en parallèle : un sérum est dit « infecté » quand il est positif à un test de contrôle au moins. La sensibilité sera bonne, mais la spécificité moindre.

Ainsi, aucun test diagnostique n'étant idéal, il faut faire une combinaison de différents tests, avec un test de dépistage sensible, et un ou plusieurs tests de contrôle pour améliorer la Valeur Prédictive Positive, puis une interprétation en série pour améliorer la spécificité. Ces techniques sont à adapter à la situation épidémiologique de la maladie et aux infrastructures existant dans chaque pays.

c) Prophylaxie médicale

La vaccination est recommandée par l'Office International des Epizooties pour le contrôle de la brucellose dans les zones où la prévalence de l'enzootie est élevée. Le vaccin S19 est le vaccin de choix pour les bovins car il protège durant toute la durée de vie utile de l'animal, et il est peu onéreux. Pour éviter de gêner le diagnostic, il est recommandé de limiter la vaccination aux jeunes animaux (veaux de 3 à 8 mois) chez lesquels les anticorps vaccinaux disparaissent rapidement. On estime que 65% à 80% des animaux vaccinés bénéficient d'une protection durable contre l'infection. De plus, le vaccin ayant un puissant effet anti-abortif, il diminue une des principales sources d'infection, à savoir les fœtus. Dans un programme de vaccination systématique, les meilleurs résultats sont obtenus pour une couverture annuelle de 70% à 90% des veaux en âge d'être vaccinés. Les femelles de plus de huit mois et les mâles ne doivent pas être vaccinés, et la vaccination de rappel n'est pas recommandée. Le principal objectif d'un tel programme est de réduire le taux d'infection et de faire en sorte que les troupeaux soient résistants à la brucellose, pour que l'éradication de la maladie puisse ensuite être entreprise. On estime que 7 à 10 ans de vaccination systématique sont nécessaires pour atteindre cet objectif.

Pour les bovins, deux vaccins existent actuellement contre la brucellose : le vaccin S19 et le vaccin RB51.

Le vaccin S19 n'est pas un vaccin idéal mais c'est le plus utilisé à travers le monde. C'est un vaccin à agent vivant fabriqué à partir de la souche S19, qui appartient au biotype 1 de *Brucella abortus*, mais n'a pas besoin de supplément de CO₂ pour sa croissance, et n'est pas inhibé par le bleu de thionine, la safranine, la pénicilline et l'érythrol.

Son efficacité est très bonne, mais il a quelques inconvénients majeurs. En effet, il induit une réponse humorale identique à celle qui se produit lors d'une infection (déterminant antigénique majeur porté par le LPS de la membrane externe), avec des anticorps résiduels dans le lait et le sérum posant problème pour le dépistage. De plus, il peut être infectieux pour l'Homme, et a un effet abortif chez certaines vaches.

Il peut être injecté par voie sous cutanée à la dose de 50-80 milliards de bactéries vivantes. Il induit alors une réaction positive aux tests sérologiques, d'autant plus durable que la vaccination se fait tard. Il provoque également des avortements quand il est administré à une vache en gestation, mais ceci est rare (moins de 1% des cas). Enfin, dans 2% des cas, il y a des infections vaccinales persistantes chez la vache laitière, avec excrétion de souche vaccinale dans le lait (ou dans le sperme pour le taureau) pendant trois mois après le vaccin. L'usage de ce vaccin à cette dose est donc réservé aux femelles de 3 à 6 mois, chez lesquelles il induit parfois des arthropathies, particulièrement à l'articulation fémoro-tibial.

En réalité, la persistance des anticorps vaccinaux dépend plus de l'âge et de la dose de vaccin que de la voie d'administration. Lorsqu'on l'injecte à dose réduite, il y a moins d'interférences avec les tests sérologiques.

Il est possible par exemple de l'administrer en sous cutané à la dose de 0,3 à 3 milliards de bactéries, pour les vaches adultes. Le degré de protection est alors supérieur que lors d'une vaccination à 4-10 mois mais il y a plus de chances que la vache réponde positivement aux tests sérologiques. En effet, certains animaux développeront des titres en anticorps persistants, et des avortements peuvent survenir, ainsi que l'excrétion de souche vaccinale dans le lait.

On utilise enfin la voie conjonctivale pour les animaux de tous âges, avec deux administrations de 5-9 milliards de bactéries vivantes, à six mois d'intervalle : la première à 6-10 mois, en SC ou conjonctivale, et la deuxième à 10-16 mois, toujours en conjonctivale. Ce protocole assure une bonne protection sans réponse en anticorps persistants, et il réduit le risque d'avortement et d'excrétion dans le lait.

Ces différents protocoles ont tous une grande efficacité et un large éventail d'utilisation. Cependant, les bovins vaccinés peuvent parfois résister à l'infection tout en disséminant la souche d'épreuve en quantité et pendant une longue période, et les animaux sensibles non vaccinés peuvent alors être infectés. Il est donc important de vacciner tous les animaux pour épuiser le relais par lequel *Brucella abortus* se perpétue.

En résumé, les bactéries se comportent comme une souche atténuée lorsqu'elles sont administrées à des bovins non pubères. Cependant, dans de rares cas, il peut se produire des infections locales du tractus génital. Une réponse en anticorps persistants six mois ou plus se produit chez une proportion substantielle de bovins vaccinés selon les doses adultes. Enfin, quelques veaux adultes développeront plus tard des arthropathies, surtout à l'articulation fémoro-tibiale. Ce vaccin est donc sans danger pour la plupart des animaux si administré aux veaux entre 3 et 8 mois. Chez les adultes, il faudra utiliser des doses réduites.

La durée précise de la protection est inconnue. La protection contre *Brucella melitensis* est peu évidente. La réversion vers la virulence est très rare.

Le vaccin RB51 est devenu le vaccin officiel pour la prévention de la brucellose bovine dans plusieurs pays. Chaque pays utilise cependant des protocoles de vaccination différents.

Il a été reporté que ce vaccin induisait des placentites sévères et des infections du placenta chez la plupart des animaux, et qu'une excrétion de bactéries dans le lait existait chez une part importante de la population vaccinée. Son inoculation à des femelles gravides peut également provoquer des avortements. L'utilisation de la dose réduite permet de supprimer ces problèmes, mais n'est alors efficace que chez des animaux adultes.

L'avantage de ce vaccin est qu'il ne se produit pas de séroconversion des animaux vaccinés car la souche utilisée n'a pas de LPS. Cependant, lorsqu'il est administré en dose réduite, il faut répéter les injections, ce qui peut mener à une réponse en anticorps interférant avec les tests sérologiques.

Il permet une immunité durable mais pendant une durée inconnue. Il n'y a pas de réversion possible, mais il peut exister une virulence chez l'Homme, dont la gravité est mal connue.

Pour les petits ruminants, une prophylaxie médicale est justifiée dans les régions fortement infectées, où elle est la seule méthode de lutte économiquement utilisable. Elle peut aussi compléter la prophylaxie sanitaire quand le taux d'infection est élevé, mais elle est à proscrire en région indemne ou peu infectée. Le vaccin le plus efficace est un vaccin à agent vivant préparé à partir de la souche **REV1** de *Brucella melitensis*, qui a un pouvoir pathogène atténué pour les petits ruminants.

Son inoculation provoque une hyperthermie transitoire avec anorexie passagère, et parfois une réaction inflammatoire au site d'inoculation. La souche persiste ensuite dans l'organisme. Mais elle est labile en conditions naturelles et doit donc être conservée au frigo.

Une seule injection sous cutanée ou conjonctivale aux jeunes femelles de 3-6 mois assure une protection pendant plusieurs années, avec une réponse sérologique limitée qui n'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes.

La dose classique en sous cutanée est de 10-20 milliards de bactéries : les anticorps persistent alors deux ans. Cette même dose injectée par voie conjonctivale entraîne une persistance des anticorps pendant seulement quatre mois.

Il existe deux stratégies vaccinales :

- Vaccination systématique de tous les jeunes (3 à 6 mois) destinés à remplacer les animaux plus âgés du troupeau. C'est la meilleure stratégie pour limiter la diffusion de la maladie et éviter la contamination de l'Homme.
- Vaccination généralisée avec élimination des animaux porteurs d'anticorps.

CHAPITRE 3 : LA BRUCELLOSE EN MONGOLIE : UNE PRIORITE NEGLIGEE

1. Histoire de la brucellose en Mongolie [7, 17]

La brucellose est apparue en Mongolie lors de la politique de collectivisation des troupeaux, dans les années 1940. En effet, des troupeaux privés de statuts sanitaires très différents ont alors été rassemblés.

En 1965, l'Organisation Mondiale de la Santé lance un programme d'assistance à la Mongolie pour la lutte contre la brucellose, ainsi que des études épidémiologiques visant à déterminer sa prévalence chez l'Homme et les animaux. Le gouvernement met alors en place un système de test et abattage d'une durée de trois ans, mais les résultats seront très décevants, montrant une prévalence très faible dans la population animale alors que 87% des troupeaux de bovins et 80% des troupeaux de petits ruminants sont en réalité infectés.

Parallèlement, une étude menée en Russie en 1972 sur des animaux mongols permet d'identifier *Brucella melitensis* biotypes 1, 2, 3 comme responsable de la maladie chez les petits ruminants ; et *Brucella abortus* biotypes 3 et 8 chez les yaks, les vaches et les chameaux. Une séroprévalence de 5% existe également chez les rennes, chez qui la bactérie impliquée est sans doute *Brucella suis* biotype 4.

En 1975, le gouvernement lance une campagne de vaccination de masse des animaux, planifiée sur dix ans. Dans ce cadre débute une production locale de vaccins REV1 et S19 par l'usine Biocombinat à Ulaanbaatar. Une baisse remarquable du nombre de cas humains déclarés est alors observée entre 1974 (4,8 cas pour 100 000 habitants) et les années 1980 (presque 0/100 000).

Cependant, à la fin du régime communiste, les fonds alloués pour la santé animale sont fortement réduits, et aucune révision de la législation et de la réglementation relatives à ce domaine n'est effectuée. En avril 1999, les services vétérinaires sont privatisés et le système de surveillance de la brucellose est complètement désagrégé. La vaccination contre la brucellose devient alors volontaire et sporadique car les ressources sont trop faibles, l'équipement détérioré, et la fabrication de vaccin insuffisante. De plus, des problèmes de maintien de la chaîne du froid rendent souvent les vaccins utilisés inefficaces. Tout cela entraîne une hausse importante de la prévalence de la brucellose chez l'Homme (de 0,04/100 000 en 1990 à 0,5/100 000 en 1998) et l'animal.

En 1999, l'Organisation Mondiale de la Santé décide donc de mettre en place un nouveau programme de surveillance de la brucellose, en partenariat avec le gouvernement mongol. La situation sanitaire est alors mal connue puisque aucune étude de prévalence n'a été menée depuis des années : les dernières données, issues du gouvernement, sont des moyennes établies à partir des tests sérologiques réalisés sur les bovins et les ovins entre 1966 et 1998 et ne donnent que le nombre d'animaux testés, mais pas le nombre de positifs.

Concernant la brucellose humaine, les dernières campagnes de dépistage réalisées dans les hôpitaux montrent une séroprévalence de 25,7% dans les populations à risque (éleveurs, vétérinaires et personnel d'abattoir), et un taux d'incidence annuelle de presque 10%. La vaccination de ces personnes avait été stoppée à cause d'un fort taux de réactions paradoxales au vaccin.

Le programme de surveillance alors en place prévoit : tests et abattages de tous les mâles reproducteurs, et vaccination volontaire des femelles seulement. Ces mesures étaient évidemment insuffisantes pour éviter l'augmentation de la prévalence de la maladie chez l'Homme, puisqu'elles ne pouvaient mener ni à l'éradication ni à au contrôle de la maladie chez les animaux. En effet, une prévalence d'infection estimée très élevée chez les animaux, ainsi que les changements socio-économiques récents (privatisation du cheptel, taille augmentée des troupeaux, privatisation de services vétérinaires et faibles infrastructures) font que l'approche « test et abattage » a peu de chances d'atteindre un niveau suffisant pour pouvoir combattre efficacement la maladie chez l'Homme.

Ainsi, lors de la première évaluation réalisée par l'Organisation Mondiale de la Santé en avril 1999, les recommandations suivantes sont données :

- Finaliser le projet du Programme de Contrôle de la brucellose en Mongolie en définissant clairement une stratégie, afin de le soumettre à des bailleurs de fond.
- Etablir un programme de contrôle en trois phases, avec une collaboration des secteurs de santé et de l'agriculture :
 - Phase d'attaque de 2 ans : Vaccination de masse, information et éducation des éleveurs et du personnel de santé publique et animale, recherches sur l'épidémiologie de la maladie (déterminer l'espèce de *Brucella* la plus prévalente chez les vaches, yaks et chameaux afin de pouvoir choisir le vaccin le plus approprié).
 - Phase d'implantation de 3 ans : durcir la surveillance en santé publique et animale, augmenter les capacités des laboratoires, améliorer la détection et la gestion des cas, éduquer les populations, et adapter/augmenter la production de vaccin.
 - Phase de maintenance de 5 ans, afin de rendre durable cette surveillance.

Ensuite, des échantillons analysés au laboratoire de référence de l'OIE ayant montré que *Brucella abortus* était l'espèce la plus prévalente chez les vaches, les yaks et les chameaux, il a été conseillé d'utiliser pour la vaccination de masse :

- le vaccin REV1 pour les petits ruminants (1 milliard de CFU en SC pour les animaux de tous âges et sexes, 10 milliards de CFU pour les jeunes de moins de 8 mois)
- le vaccin S19 pour les vaches et les yaks (10 milliards de CFU pour les adultes, 100 milliards de CFU pour les veaux de moins de 1 an, et vaccination de masse des vaches gestantes seulement la première année)

Cependant, des recherches sont encore nécessaires pour adapter le vaccin S19 aux yaks et pour savoir quel vaccin utiliser pour les chameaux.

De plus, deux semaines pilotes de vaccination de masse réalisées dans l'aimag de Dornod ont permis d'identifier certaines contraintes majeures :

- Rupture de la chaîne du froid, menant au sous dosage des vaccins
- Impossibilité d'utiliser le vaccin par voie conjonctivale : traumatismes de l'œil lors du micro pipetage, ou gaspillage de vaccin, et risques importants pour le manipulateur à cause du vent (graves lésions oculaires).
- Pénurie de milieux de culture pour *Brucella* au Laboratoire Central Vétérinaire
- L'Institut de Recherche Vétérinaire, seul laboratoire équipé avec un cabinet de biosécurité de classe 2, ne réalise pas de culture de *Brucella*.
- Cultures de *Brucella* réalisées selon la technique russe, qui présente de grands risques pour l'opérateur et ne permet pas l'isolement de toutes les souches.
- Dans les laboratoires de *sum* : manque du matériel et températures trop basses pour permettre la bonne réalisation des sérologies.
- Aucune standardisation des tests sérologiques.

En réalité, les observations effectuées sur le terrain ont révélé l'existence de différentes stratégies de lutte appliquées à cette époque, dans différentes aires et sur différents animaux :

- **Test des animaux et abattage des positifs, sans vaccination des jeunes.** Cette méthode a mené à l'éradication de la maladie dans certains pays développés, contre *Brucella abortus*, MAIS elle n'est pas efficace contre *Brucella melitensis*, et elle ne peut fonctionner que si les animaux sont identifiés, avec de bonnes infrastructures vétérinaires, une compensation financière pour les éleveurs lors de l'abattage, et un contrôle des mouvements d'animaux, ce qui est loin d'être le cas en Mongolie.
- **Test des animaux et abattage des positifs, ainsi qu'une vaccination des jeunes.** Cette stratégie est mal appliquée également car les tests ne sont réalisés que sur les mâles de certains troupeaux, et l'abattage des positifs est effectif chez moins de 30% des animaux positifs. De plus, la vaccination des jeunes n'est faite qu'à petite échelle, Biocombinat ne produisant que 1 million de doses de REV1 par an.
- **Vaccination de tous les animaux du troupeau.** Cette approche serait la plus appropriée mais la production de Biocombinat est trop faible pour couvrir les besoins de tout le pays, bien qu'il se dise capable de produire 4 millions de doses de REV1 et 150 000 doses de S19 par an. (Le vaccin REV1 produit par Biocombinat a été reconnu comme remplissant les standards internationaux de l'OIE mais il n'y a pas d'informations à propos du S19).

Des réformes sont donc nécessaires, afin d'uniformiser les mesures de lutte sur tout le territoire et de mettre en place un programme adapté à la situation du pays, ce qui sera réalisé par l'Organisation Mondiale de la Santé, en collaboration avec le gouvernement mongol. En effet, il semble que la brucellose soit alors la priorité en santé animale pour les services vétérinaires d'état et pour le ministère de l'agriculture, tandis que les autres maladies animales et zoonoses de la liste de l'Office International des Epizooties ne sont pas abordées. Pour le secteur de la santé publique, elle est une des trois maladies prioritaires, avec la tuberculose et l'hépatite.

2. Situation actuelle [3, 5, 16, 21, 22]

Bien que peu de données soient disponibles sur la situation actuelle de la brucellose en Mongolie, il semble que le taux de prévalence y soit encore assez élevé chez les animaux, et que des cas humains soient déclarés régulièrement. Les résultats des dernières études réalisées sont présentés dans le tableau 4.

Référence	Année	Région	Espèce	Echantillon	Test utilisé	Prévalence
EBRIGHT « Emerging Infectious Diseases in Mongolia »	2003	Toutes	BV	?	?	5-10%
			PR			2%
Handistatus OIE	2004	Toutes	BV	?	?	502 cas déclarés
A.FINE	2004	Bayan-khongor	BV	513 animaux	Rose Bengale	13,8%
				103 troupeaux	Ring Test	41,3% (prev troupeau)
Ministère agriculture	2003	Toutes	Toutes	Tous les mâles reproducteurs	Rose Bengale et FC/SAT	0,3%
Ministère agriculture	2004	Toutes	BV	Tous les mâles reproducteurs	Rose Bengale et FC/SAT	0,6%
			OV			0,2%
			CP			0,2%
Ministère agriculture	2005	Toutes	BV	Tous les mâles reproducteurs	Rose Bengale et FC/SAT	0,5%
			OV			0,2%
			CP			0,1%

Tableau 4 : Etudes de prévalence de la brucellose réalisées en Mongolie au cours des trois dernières années (FC : Fixation du complément, SAT : Séro-Aglutination test)

Concernant l'épidémiologie de la brucellose en Mongolie, les différentes espèces de *Brucella* qui y sont présentes sont les suivantes [16]:

- *Brucella melitensis* biotypes 1, 2, 3 chez les ovins et les caprins (trouvée également chez une vache).
- *Brucella abortus* biotypes 3, 7, 8 chez les vaches, les yaks, les chameaux, et parfois les ovins.
- *Brucella suis* chez les porcs et les rennes.

Enfin, les aspects zoonotiques de la maladie ont été étudiés par Andrea Mikolon, et la bactérie la plus souvent isolée à partir du sang de patients humains semble être *Brucella melitensis*.

En 2001, huit milles cas humains de brucellose chronique ont été reportés, alors que seulement cinquante lits sont disponibles dans le service de maladies infectieuses de l'hôpital d'Ulaanbaatar qui est en charge de cette maladie. Ces patients souffrent le plus souvent de douleurs osseuses chroniques, et la brucellose est diagnostiquée à partir des signes cliniques, des radios et des tests sérologiques. Mais il est rare que des cultures bactériennes soient réalisées, en raison du manque de matériel adapté à la manipulation de bactéries pathogènes pour Homme.

Le traitement administré aux patients de cet hôpital est classique, à base de doxycycline et de gentamycine. Mais il n'est administré que deux semaines la plupart du temps (alors que 6 semaines sont nécessaires), et les rechutes sont très fréquentes. Cependant, de nombreux hôpitaux utilisent depuis peu le principe de l'auto vaccination pour traiter la brucellose, avec une hospitalisation qui ne dure alors que 18 jours pour une efficacité supérieure à l'antibiothérapie, et à moindre coût.

Le mode de transmission à l'Homme le plus courant est le contact direct avec des animaux infectés, notamment lors de la contention et de l'abattage. La contamination est ensuite possible par consommation de lait cru, lors des mises bas, de la traite, et lorsque les nouveaux nés vivent dans la yourte [16].

Le pic d'incidence de la maladie humaine a lieu de février à Juillet, à la suite des naissances et avortements chez le bétail. Les facteurs de risque sont surtout liés à l'activité des gens (éleveurs, ouvriers d'abattoir, vétérinaires, ouvriers dans la laine et le cachemire, laborantins). Les jeunes semblent moins sensibles à la maladie. En effet, la prévalence est plus faible chez les enfants de moins de 15 ans. Le rôle du facteur sexe n'a pas encore été démontré (presque tous les trayeurs et trois quarts des ouvriers d'abattoir sont des femmes).

Une étude menée en 1999 dans la province de Dornod a révélé un taux de séropositivité de 30 % chez les éleveurs. Quant aux ouvriers d'abattoir, un dépistage réalisé en 2000 a montré 23 % de séropositifs. La vaccination de ces personnes a en effet été arrêtée il y a quinze ans.

Dans la province de l'Arkhangai, le service de maladies infectieuses de l'hôpital d'aimag a soigné 133 cas de brucellose humaine au cours de l'année 2005. Ces cas étaient presque exclusivement des éleveurs, en majorité des hommes, âgés de 30 à 45 ans.

3. Programme National de surveillance de la brucellose

[7, 17, 21, 22, « *Texte officiel du ministère de l'Agriculture* »]

Le programme de lutte contre la brucellose a été rédigé en 2000 par le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, en collaboration avec le Ministère de la Santé et du Bien-être Social et l'Organisation Mondiale de la Santé.

« La mise en place d'un programme de lutte contre la brucellose a été décidée à la suite de la constatation des pertes économiques importantes qu'elle engendrait, ainsi que de son impact sur la santé animale et surtout humaine (taux d'infection de 5/ 10 000 en 2000).

Le programme de surveillance de la brucellose, approuvé par la 64^{ème} résolution du gouvernement mongol, prévoit le testage de 100% des mâles reproducteurs et de 10-15% des femelles, ainsi que la vaccination de toutes les femelles. »

Les objectifs principaux de ce programme sont :

- *« Faire baisser la prévalence chez le bétail : en améliorant notamment les systèmes de surveillance et la prophylaxie*
- *« Encourager l'exportation : produits animaux sains, tests diagnostics reconnus internationalement »*
- *« Améliorer le mode de vie des éleveurs : produits animaux plus sains, baisse de prévalence de la brucellose humaine, arrêt des pertes de production dues à la maladie, régularité des revenus grâce à l'exportation... »*

Les moyens de cette lutte sont :

* Test sur les mâles reproducteurs :

- *« Test Rose Bengale effectué par les laboratoires d'aimag sur tous les mâles reproducteurs des espèces bovine, ovine et caprine entre les mois de juin et septembre »*
- *« Confirmation des positifs par un Test de Séro-Agglutination et par un Test de Fixation du Complément, réalisés également dans les laboratoires d'aimag »*
- *« Isolement puis abattage des animaux confirmés positifs, sous contrôle vétérinaire »*

* Autres tests :

- *« En cas d'épidémie : tests sérologiques et bactériologiques sur les femelles au laboratoire d'aimag, et abattage des positifs. Isolement des souches impliquées au Laboratoire Central Vétérinaire »*
- *« Ring Test sur des échantillons de lait vendus vers Ulaanbaatar » (mais ces échantillons sont souvent composés de laits de plusieurs espèces mélangées, ce qui rend le test ininterprétable).*
- *« Contrôles sérologiques et bactériologiques sur le sperme des animaux utilisés en insémination artificielle »*

* Vaccination des femelles :

- « *La première année : vaccination de toutes les femelles petits ruminants avec le vaccin REVI et de toutes les femelles bovins avec S19* »
- « *Répétition de la vaccination trois ans plus tard, avec un décalage entre les aimags : 11 feront la première vaccination en 2000, 6 en 2001, et 5 en 2002* »
- « *Vaccination tous les ans de toutes les jeunes femelles de l'année* »
- Organisation de la prophylaxie par les autorités locales : chaque aimag décide du nombre d'animaux à vacciner et donc du nombre de vaccins à commander, en fonction des données fournies par le recensement annuel

* Autres mesures :

- « *Pose de boucles d'identification* » (pas fait pour l'instant)
- « *Repérage et désinfection des zones d'émergence de la maladie* »
- « *Sérosurveillance des personnes les plus exposées* »

Un testage de tous les animaux est ensuite prévu pour 2010, afin d'estimer le nouveau statut sanitaire du cheptel.

Financement

« *Le coût du projet sur la période 2001-2010 est estimé à plus 11 milliards de tügrigs (7,3 millions d'euros), apportés par le gouvernement, les administrations locales et par des dons d'organisations internationales.* »

Par la suite, une étude a été réalisée par l'Organisation Mondiale de la Santé, afin d'estimer l'intérêt économique et le rapport coût/efficacité des progrès sanitaires obtenus en procédant à la vaccination de masse du cheptel contre la brucellose [21,22].

Pour cela, on a modélisé le rapport coût/efficacité et les bénéfices pour le peuple et pour le secteur agricole d'une vaccination de masse contre la brucellose. L'intervention consistait en une vaccination de masse planifiée sur dix ans, avec le vaccin REVI pour les petits ruminants et le vaccin S19 pour les bovins. En estimant que la transmission entre animaux diminuerait de 52 %, le bénéfice de cette opération était très important.

Pour conclure, en répartissant le coût de la vaccination entre tous les secteurs, proportionnellement aux bénéfices qu'ils en retirent, l'intervention est profitable et rentable pour les secteurs de l'agriculture et de la santé.

**DEUXIEME PARTIE : DEPISTAGE
SEROLOGIQUE DE LA BRUCELLOSE
DANS TROIS SUMS DE L'ARKHANGAÏ**

CHAPITRE 1 : OBJECTIFS ET CONTEXTE DE L'ETUDE

1. Objectifs de l'étude

Notre étude porte sur l'épidémiologie de la brucellose dans les troupeaux de yaks et de petits ruminants présents dans trois *sums* de l'Arkhangai : Ondor Ulaan, Tariat et Khangai. Ces *sums* sont considérés comme zone pilote pour proposer par la suite des améliorations du système d'épidémiosurveillance au niveau national.

Le premier objectif est de déterminer la prévalence sérologique de la brucellose dans cette zone, par la réalisation de tests de dépistage sur tous les mâles reproducteurs bovins, ovins et caprins.

La réalisation de tests Rose Bengale sur ces animaux, avec de l'antigène fabriqué en France et en respectant les normes internationales, et la comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par les vétérinaires de terrain (qui utilisent du Rose Bengale produit localement et ne suivent que les recommandations des standards mongols), nous permettra ensuite de valider ou non leur technique.

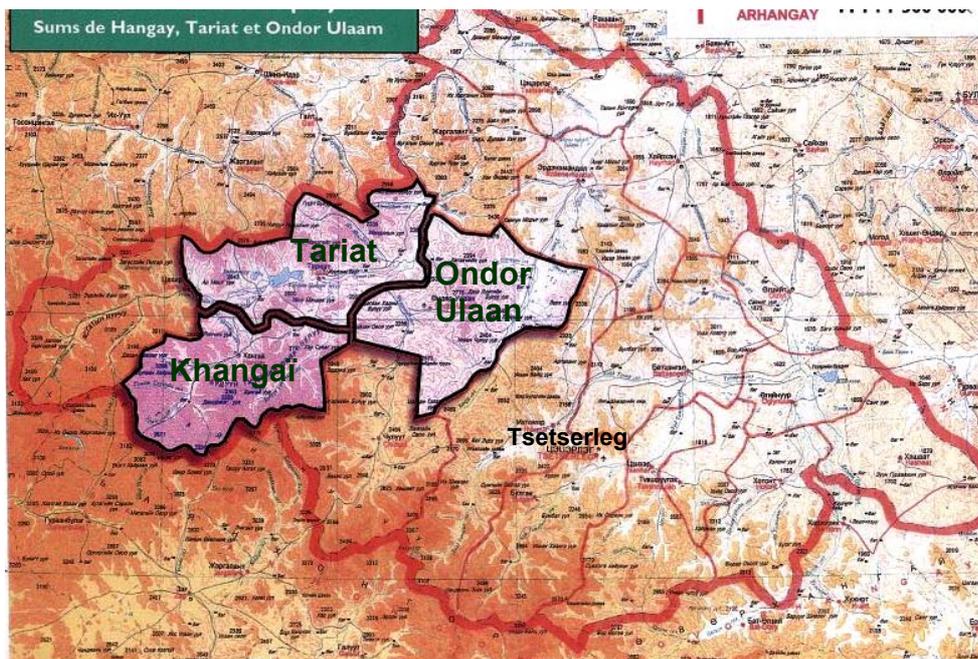
Ayant participé aux campagnes de prophylaxie menées dans ces trois *sums* durant l'été 2006, nous avons pu ainsi identifier les difficultés existant pour récolter les prélèvements, puis pour réaliser les tests sur le terrain. Le fait de faire ces tests en même temps et dans le même laboratoire que les vétérinaires de *sum* nous a permis de parfaire leur formation sur la technique de réalisation du Test Rose Bengale.

Enfin, au cours de nos visites aux éleveurs, nous avons mené une enquête visant à déterminer les risques épidémiologiques majeurs vis à vis de la brucellose, notamment ceux liés aux mouvements d'animaux et aux pratiques d'élevage. Cette enquête a été l'occasion aussi d'évaluer l'efficacité des formations données aux éleveurs par les vétérinaires de *bag*.

2. Zone de l'étude : trois sums de l'Arkhangai [8, 11, 12]

Notre étude s'est déroulée dans trois départements de la province (*aimag*) de l'Arkhangai, située au centre de la Mongolie (cf. carte 2), et dont la capitale est Tsetserleg. L'Arkhangai compte plus de 100 000 habitants, sur un territoire de 55.000 kilomètres carrés divisé en 19 départements (*sums*). Il se trouve dans la partie centrale des monts Khangai et est recouverte de montagnes, de steppes et de forêts, avec une altitude moyenne de 2 400 mètres.

Plus de 70% de son territoire sont dédiés au pâturage et 15% sont recouverts de forêts. Le secteur de l'agriculture domine largement l'économie locale, avec 77% des familles qui pratiquent l'élevage (correspond à 87% du produit intérieur brut de la province), et quelques terres cultivées de céréales, patates et autres légumes.



Carte 3 : Zone de l'étude

(Source : Géraud Laval)

Les trois *sums* concernés par notre étude, à savoir Ondor Ulaan, Tariat et Khangai, se trouvent dans une zone de haute montagne, où les monts Khangai s'élèvent à plus de 3300 mètres d'altitude. Cette zone est riche en forêts, situées sur les versants nord des montagnes, et principalement constituées de mélèzes. Les vallées y sont relativement étroites (quelques mètres) sur les hauteurs, tandis qu'elles peuvent être larges d'une dizaine de kilomètres dans les zones plus basses.

Ces trois *sums* comptent au total 3700 familles, dont 10-15% sont dans les centres de *sum*, et le reste est dispersé en *khot ails* (regroupement social de deux à huit *gers*) dans les *bags*. C'est une des régions les plus peuplées de la Mongolie, avec une densité proche de 1,5 habitants au kilomètre carré.

On estime le nombre de têtes de bétail à 320 000 dans l'ensemble de la zone, avec des troupeaux tous mixtes : bovins, ovins, caprins et chevaux. Les productions animales sont principalement le lait, la viande et le cashmere. Les systèmes de production sont identiques dans les trois *sums* et ils ont entre eux des liens étroits puisque :

- Ondor Ulaan est le lieu d'hivernage d'une bonne partie du cheptel de Tariat
- Les voies de commercialisation des produits animaux passent de Khangai par Tariat et Ondor Ulaan avant d'aller vers le centre d'*aimag* (Tsetserleg), puis vers Ulaanbaatar
- Ondor Ulaan a un potentiel de production de foin suffisant pour approvisionner Tariat et Khangai, où les conditions sont moins adaptées.

Située entre le désert de Gobi et la Sibérie, cette région présente un climat aux contrastes très marqués (cf. Figure 4).

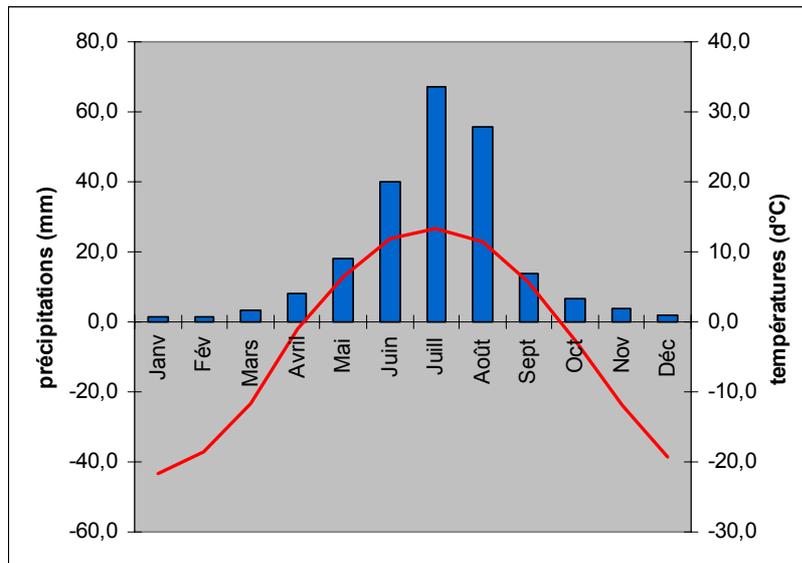


Figure 4 : Diagramme ombrothermique de la zone
(Source : Service météorologique de l'Arkhangai)

Les précipitations annuelles avoisinent les 250 mm/an avec une saison humide qui en concentre les trois quarts entre juin et septembre. Les températures moyennes ne sont positives que de fin avril à début octobre (moyenne annuelle de -3 d°C), et seuls les mois de juillet et août sont épargnés de gelées et de chutes de neige. Les rafales de vent sont fréquentes et peuvent abaisser fortement la température apparente dans les vallées.

Ainsi, la période végétative des plantes atteint à peine 90 jours dans les zones les plus hautes (sud-ouest), et est limitée à 120 jours dans la partie est de la zone (*sum* d'Ondor Ulaan). La végétation de la steppe est dominée par des graminées, du type *Festuca spp.* et *Artemisia spp.*, tandis que les légumineuses sont rares (*Medicago falcata* et *Astragalus spp.*).

3. L'élevage dans la province de l'Arkhangai [2, 8]

L'élevage pastoral semi-nomade est quasiment l'unique mode d'exploitation du milieu (hormis quelques potagers aux centres *sums*). Les éleveurs changent de camp quatre fois par an en moyenne, au sein d'une même vallée, et en se déplaçant seulement de quelques kilomètres à chaque fois. Les stations d'hiver et de printemps sont généralement au pied des montagnes, à l'abri du vent, et celles d'automne et d'été dans le fond des vallées principales, près des cours d'eau. Cela permet une rotation des pâturages et limite le phénomène de surexploitation des prairies. En effet, la pousse de l'herbe s'étend sur une période très courte (de fin mai à mi-août environ), à cause des faibles températures et de la sécheresse, et des problèmes de surpâturage sont fréquents dans les zones très peuplées, surtout autour des agglomérations.

La population animale de l'Arkhangai est très importante, avec une des densités les plus élevées de tout le pays. Rien que pour les trois *sums* de notre zone d'étude, on compte 320 400 animaux, avec la répartition suivante (statistiques du projet VSF) :

- Chevaux : 27 101
- Bovins : 71 877 (dont 53 593 yaks)
- Moutons : 127 041
- Chèvres : 94 381

Une des spécificités de l'Arkhangai est donc la prédominance des yaks (*Bos grunniens*) parmi les troupeaux de bovins. Mais on trouve aussi des vaches de race mongole (*Bos taurus*) et des hybrides. En effet, le croisement d'un taureau de race mongole avec une femelle yak est très pratiqué car il donne des femelles de première génération plus productives, tandis que les mâles obtenus sont stériles. Originaires des hauts plateaux du Tibet, les yaks ont une physiologie adaptée aux conditions climatiques, avec notamment une grande résistance au froid et aux périodes de jeûne.



Photo 2 : Taureau yak

(Source : Clotilde Sibille)

Dans notre zone, le cheptel familial moyen, recomposé en 1991 à partir de bétail privé et de bétail décollectivisé, compte 30 yaks dont 8 mères et quelques hybrides, 95 ovins dont 41 brebis, 25 caprins dont 11 chèvres, et 15 chevaux dont 4 juments.

L'Arkhangai est également réputé dans toute la Mongolie pour la qualité de ses produits laitiers. Les plus célèbres sont l'*aruul*, sorte de yaourt séché fabriqué à partir de lait de yak, et l'*airag*, lait de jument fermenté très recherché pour ses qualités gustatives et curatives.

Cependant, cet *aimag* a été l'un des plus touchés par les dzuds des hivers 1999 à 2001, où les températures sont descendues en dessous de -50°C , et qui ont été suivis par une grande sécheresse (*khiam*) durant l'été 2002. Le froid et le manque de fourrage ont alors décimé les troupeaux : 4% des éleveurs de l'Arkhangai ont perdu tous leurs animaux et 84% en ont perdu plus de la moitié.

4. Projet VSF-CICDA de « Sécurisation du niveau de vie des éleveurs de l'Arkhangai » [11, 12]

L'ONG « Vétérinaires sans frontières » a été fondée à Lyon en 1983. Elle a rejoint en 2004 l'organisation CICDA (Centre International de Coopération pour le Développement Agricole) pour devenir « Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières ». L'ONG a maintenant des projets dans vingt pays du monde, en Afrique, Amérique Latine, et Asie (Vietnam, Cambodge, Mongolie).

Le but premier de VSF-CICDA est l'amélioration des conditions de vie des petits agriculteurs. Ceci passe par un soutien à mener leur propre développement, à travers l'amélioration de la santé animale et le support aux activités agricoles et d'élevage : formations, création d'organisations professionnelles, conseils techniques... Ainsi, elle procure un support technique aux agriculteurs qui vivent dans les zones sensibles, afin de permettre aux populations les plus pauvres du monde, et particulièrement aux petits fermiers, de manger, de générer des revenus, et de vivre dignement.

Le projet de « Sécurisation du niveau de vie des éleveurs de l'Arkhangai » a débuté en novembre 2004, suite à des catastrophes climatiques ayant engendré d'importantes pertes de bétail pour les éleveurs et se concentre sur trois *sums* de la province. Il a été lancé pour une période de trois ans, avec le financement de l'Union Européenne.

Les problèmes majeurs identifiés par le projet ont été :

- Une absence de revenus réguliers pour les éleveurs et un manque de liquidité pour payer les services de santé animale.
- Un approvisionnement défaillant des pharmacies vétérinaires
- Un déplacement difficile des professionnels de la santé animale

Deux objectifs principaux ont été fixés dès le lancement de ce projet, visant à sécuriser le niveau de vie des éleveurs :

- Améliorer la santé animale :
 - Pour augmenter la productivité des animaux
 - Pour générer des produits d'origine animale plus sains et donc protéger la santé humaine
 - Pour augmenter la résistance des animaux aux aléas climatiques
- Améliorer les capacités des structures locales d'appui à l'élevage :
 - Création d'organisations de producteurs
 - Meilleure valorisation des produits de l'élevage (lait, fibres animales...) et accès facilité aux marchés
 - Formation des vétérinaires et des techniciens
 - Réflexion avec les services vétérinaires locaux sur l'organisation des prophylaxies collectives

Ces améliorations passent donc concrètement par :

- Une amélioration du réseau d'épidémiosurveillance
- Des prophylaxies améliorées :
 - Au moins 80% des jeunes ruminants vaccinés contre la brucellose
 - 80% des bovins vaccinés contre le charbon
 - 80% des ovins vaccinés contre l'entérotoxémie
- Une baisse de la pression parasitaire : 80% des ruminants traités contre les parasites internes
- Une formation continue des vétérinaires et des techniciens
- La formation et l'information des éleveurs
- La mise en place d'organisations d'éleveurs
- L'élaboration de réformes avec les différents acteurs impliqués, et en collaboration avec les autorités locales et nationales

Ces objectifs ont été en grande partie atteints lors de notre étude au printemps 2006 et les différentes activités alors mises en place sont détaillées en annexe1.

5. Epidémiologie de la brucellose en Arkhangai [10]

a) Fonctionnement des réseaux d'épidémiologie

Pour l'épidémiologie passive (activité de surveillance continue reposant sur la déclaration spontanée des cas ou suspicions de la maladie surveillée), les éleveurs jouent le rôle de « sentinelles » et informent les vétérinaires de terrain et de *sums* en cas d'émergence d'une maladie. Ces derniers envoient ensuite un rapport mensuel à l'*aimag* (aux services vétérinaires, au laboratoire et/ou au gouverneur), puis l'information remonte jusqu'au niveau central (Laboratoire Central Vétérinaire et Services Vétérinaires Nationaux).

Quant à l'épidémiologie active (méthode de surveillance reposant sur la recherche des données par des actions programmées à l'avance et élaborées par l'animateur du réseau), les protocoles sont rédigés à la fois par l'échelon national et par les autorités d'*aimag*. Ces dernières décident du nombre d'animaux à tester par *sum* et envoient les plannings à chacun après approbation par le ministère de l'agriculture. Ainsi, en 2005, pour la surveillance de la brucellose, 14 000 prélèvements étaient programmés, sur des mâles reproducteurs et sur quelques femelles suspects.

Nombre de prélèvements/tests programmés				Population animale ciblée	Type de test	Lieu de réalisation du test
Total Arkhangai (19 Sums)	3 sums de la zone du projet					
	Ondor-Ulaan	Tariat	Khangai			
14000	1720 (570 bv)	900 (400 bv)	640 (270 bv)	Tous les mâles reproducteurs et quelques femelles suspects	- Rose Bengale en première intention - Si le Rose Bengale est douteux ou positifs : CFT et test de séroagglutination	- Rose Bengale : au laboratoire d' <i>aimag</i> ou dans les <i>sums</i> - CFT et test d'agglutination : toujours au labo d' <i>aimag</i>

Tableau 5 : Programme de surveillance de la brucellose en Arkhangai pour l'année 2005

(CFT : Complement Fixation Test, bv : bovins)

(Source : Services vétérinaires de l'Arkhangai, 2005)

Le tableau 6 présente les résultats de la surveillance de la brucellose bovine dans les trois *sums* du projet de VSF-CICDA en 2005.

Sum	Mâles reproducteurs				Femelles			
	Population ciblée	Prélèvements réalisés	% réalisé/objectif	Nombre de positifs (prévalence)	Population ciblée	Prélèvements réalisés	% réalisé/objectif	Nombre de positifs (prévalence)
Ondor Ulaan	370	59	16%	3 (5,1%)	200	484	242%	26 (5,4%)
Tariat	300	166	55%	0 (0%)	100	116	116%	0 (0%)
Khangai	170	99	58%	11 (11,1%)	100	133	133%	10 (7,5%)
Total des 3 sums	840	324	39%	14 (4,3%)	400	733	183%	36 (4,9%)

Tableau 6 : Campagne de surveillance de la brucellose bovine effectuée en juin 2005 dans les 3 *sums* du projet : population ciblée, prélèvements réalisés et résultats (Source : Résultats recueillis par Géraud Laval, AVSF, 2005)

En 2005, les prises de sang sur les bovins ont été effectuées à 69% sur des femelles et peu de mâles ont été prélevés en comparaison des objectifs fixés par les Services vétérinaires de l'Arkhangai. Cela s'expliquerait principalement par des difficultés de capture et de contention des taureaux. Les objectifs ne semblent donc pas réalistes par rapport aux conditions de terrain. Les résultats des tests Rose Bengale pratiqués sur les femelles sont difficiles à interpréter en raison des interférences existant avec le vaccin en cas d'anticorps persistants.

En revanche, pour les petits ruminants, beaucoup de mâles ont été testés et aucun positif n'a été trouvé, ni chez les boucs ni chez les béliers.

Les tests Rose Bengale sont réalisés par les vétérinaires d'*aimag*, au laboratoire d'*aimag* de Tsetserleg ou dans les *sums* : une équipe du laboratoire vient trois jours dans chaque *sum*, avec son propre matériel, et les vétérinaires de terrain doivent réaliser tous les prélèvements en trois jours. En effet, les vétérinaires étant prévenus peu de temps à l'avance de la venue des vétérinaires de l'*aimag*, et les laboratoires de *sum* étant dépourvus de réfrigérateurs, il est impossible de faire l'avance et de conserver des prises de sang.

Les tests de confirmation, séro-agglutination et fixation du complément, sont toujours faits au laboratoire de Tsetserleg, par une sérologiste spécialisée.

Concernant les flux de données, les laboratoires d'*aimag* envoient régulièrement au niveau national les résultats des tests (nombre d'animaux testés par *sum* et nombre de positifs confirmés). A la fin de l'année, une réunion de tous les vétérinaires de l'*aimag* est organisée pour leur exposer les résultats globaux et pour établir les plannings pour l'année suivante. Enfin, les vétérinaires sont chargés de faire redescendre l'information jusqu'aux éleveurs au cours de réunions menées dans les *sums* ou les *bags*.

Quant à la surveillance de la brucellose humaine, il n'y a plus de campagnes de vaccination depuis de nombreuses années. Chaque année, une équipe de l'hôpital de Tsetserleg se rend dans trois ou quatre sums afin de faire des tests dépistage (recherche d'anticorps après examen clinique).

D'après les données de l'unité de maladies infectieuses de l'hôpital de Tsetserleg, il semble que seuls les professionnels de la santé animale et les éleveurs soient contaminés, avec un maximum dans la tranche des 25-45 ans et une majorité d'hommes. En moyenne, depuis 2000, une centaine de personnes est traitée tous les ans contre la brucellose à l'hôpital de Tsetserleg. Un nouveau traitement reposant sur le principe de l'auto-vaccination y est pratiqué depuis peu, apparemment plus efficace, moins coûteux et moins long (18 jours au lieu de 45) que l'antibiothérapie, ce qui est très intéressant lorsqu'on sait que la prise en charge des frais médicaux par l'état a une durée maximale de dix jours.

b) Apports du projet d'Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières

Pour la surveillance active de la brucellose, le problème majeur identifié est la réalisation des tests Rose Bengale par des vétérinaires du centre *aimag*, qui ne viennent que trois jours dans chaque *sum* et demandent donc aux vétérinaires de terrain de faire toutes leurs prises de sang en un temps très court.

Un nouveau système de surveillance a donc été proposé pour l'été 2006 : les tests Rose Bengale sur les mâles reproducteurs sont effectués par les vétérinaires de *sum* eux-mêmes, dans les laboratoires de *sum*. Ainsi, chacun peut s'organiser comme il le souhaite pour la récolte des prélèvements, avec comme seule contrainte d'avoir réalisé le nombre de tests demandés par l'*aimag* avant la fin de l'été.

Pour cela, en mai 2006, un vétérinaire de chacun des *sums* du projet a suivi une formation sur la réalisation des tests Rose Bengale (théorie et pratique), dispensée par la sérologiste du laboratoire de Tsetserleg. Des rappels ont également été donnés sur l'épidémiologie de la maladie, son aspect zoonotique, les différents moyens de la diagnostiquer...

De plus, durant la formation, le projet a fourni aux laboratoires de *sum* le matériel nécessaire à la réalisation du test Rose Bengale, afin que les vétérinaires puissent s'entraîner à l'utiliser avant de commencer la prophylaxie. Ainsi, chaque laboratoire a reçu une plaque munie de puits, des pipettes graduées et un porte-pipette doseur. Pour la conservation des prises de sang puis des sérums positifs, chaque laboratoire a aussi été équipé d'une centrifugeuse et d'un réfrigérateur avec congélateur. Enfin, une glacière a été donnée à chaque *sum* pour permettre le transport des sérums à confirmer jusqu'à la capitale d'*aimag*.

D'autre part, afin de faciliter la réalisation des prélèvements, des vacutainers, aiguilles et porte-aiguille ont été distribués à tous les vétérinaires de terrain, et des parcs avec couloirs de contention ont été fabriqués dans presque tous les *bags*. Des motocyclettes fournies aux vétérinaires devraient aussi leur permettre de visiter plus d'éleveurs que les années précédentes.

AVANT

APPORTS DU PROJET

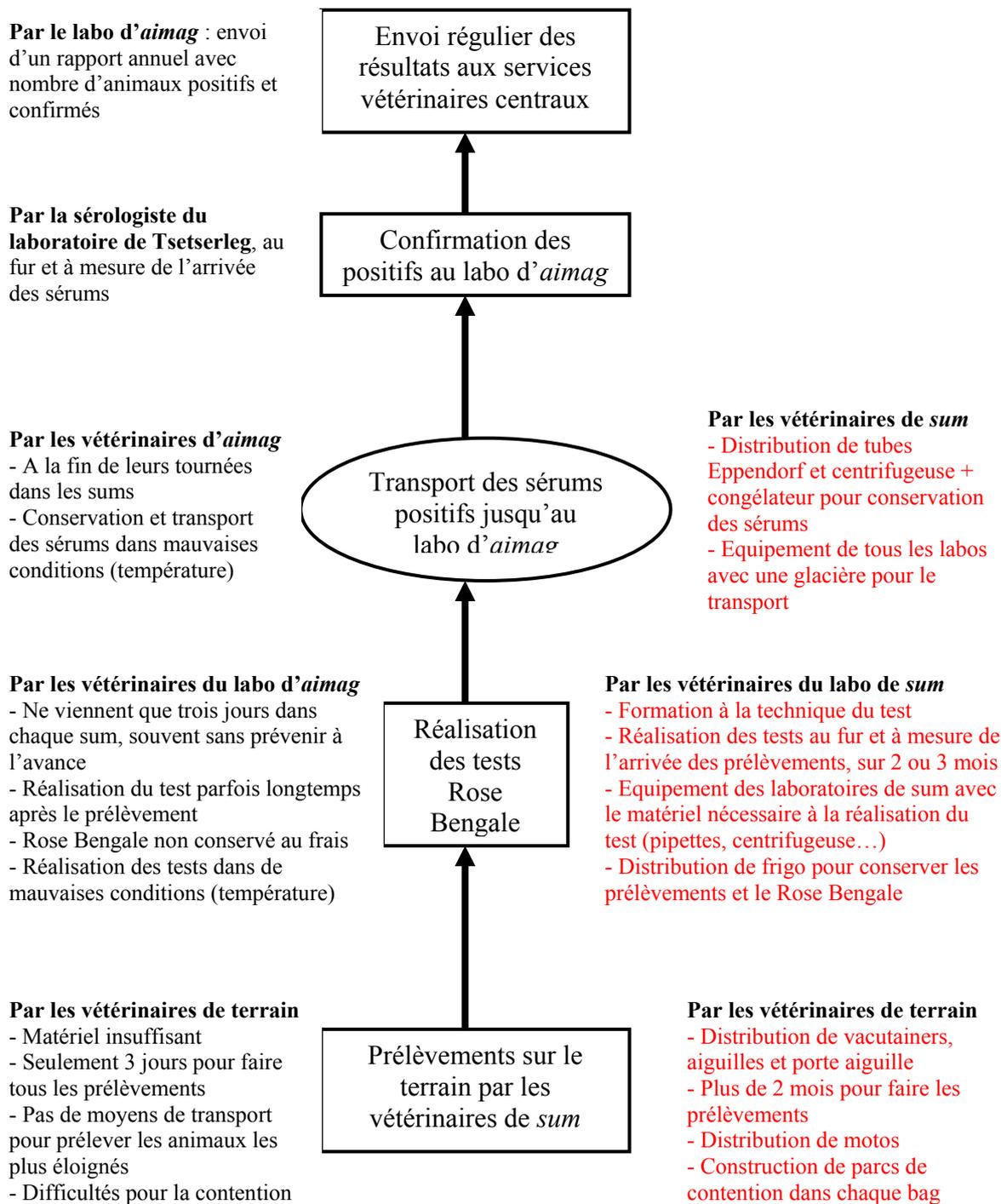


Figure 5 : Epidémiologie active de la brucellose en Arkhangai et apports du projet VSF-CICDA

Dans ce contexte, notre étude a permis une évaluation et un appui pour la mise en oeuvre de ce nouveau système de surveillance. En particulier, nous avons suivi la réalisation des tests Rose Bengale dans les laboratoires de sum, par les vétérinaires nouvellement formés, afin de valider leur technique et de poursuivre la formation en situation réelle. La réalisation des tests Rose Bengale en double, en suivant le protocole standard et avec de l'antigène produit en France selon les normes internationales nous a également permis de conduire notre propre étude de prévalence sur l'ensemble des animaux testés dans le cadre du programme national de surveillance de la brucellose.

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE

1. Echantillonnage [4, 25]

Pour l'étude de prévalence individuelle de la brucellose, la sous population étudiée est celle correspondant aux exigences du programme national de surveillance de la brucellose, à savoir tous les mâles reproducteurs dans les espèces bovine, ovine et caprine, et ceci dans les trois *sums* du projet.

Cette sous population a été définie comme suit par les autorités locales, à partir des statistiques qu'ils ont du nombre d'animaux par *sum*.

Sum	Unité vétérinaire	Tests Rose Bengale		
		Bovins	Ovins	Caprins
Ondor Ulaan	Batbayar Tunsh	200	140	100
	Chimed-Yunden	200	140	120
Tariat	Arild Suren	210	200	130
Khangai	Battseren	190	90	80
TOTAL		800	570	430

Tableau 7 : Programme de dépistage de la brucellose dans les *sums* de Ondor Ulaan, Tariat et Khangai, 2006
(Source : Chambre d'Agriculture de l'Arkhangai)

Cependant, ces estimations des populations de mâles reproducteurs sont a priori assez inexactes puisqu'elles reposent sur les déclarations faites par les éleveurs, et que ceux-ci ont tendance à sous déclarer pour limiter les taxes qu'ils ont à payer, proportionnelles au nombre d'animaux qu'ils possèdent. Il est donc impossible de connaître la taille réelle de la sous population de départ.

L'échantillon testé au sein de cette sous population n'a pu être défini que par une méthode d'échantillonnage empirique, en raison des contraintes du terrain. En effet, nous avons travaillé avec les vétérinaires locaux, qui ne prélèvent du sang que sur les taureaux accessibles et bien contenus. Cet échantillon n'est donc pas représentatif de la sous population, mais il nous donnera un résultat assez précis car il est gros.

Pour la détermination du taux de prévalence troupeau, la population étudiée est l'ensemble des troupeaux dans le *sum* d'Ondor Ulaan, soit environ 1 260 troupeaux (selon les données de l'*aimag*). Dans la pratique, nous avons pu réaliser le Ring Test sur le lait de 23 troupeaux seulement, choisis aléatoirement, et comptant en moyenne une quinzaine de femelles.

2. Prélèvements

PRISES DE SANG

Pour l'étude de prévalence, les prises de sang sont réalisées par les vétérinaires de *bag*. Le sang est prélevé à la veine jugulaire, à l'aide d'une aiguille, d'un porte aiguille et d'un tube sec. La contention des animaux est faite par les éleveurs, le plus souvent à l'aide d'une simple corde, et parfois dans des enclos avec couloirs de contention. Nous faisons parfois nous-mêmes les prélèvements de sang, à la jugulaire ou dans la veine caudale selon les commodités.



Photo 3 : Prise de sang à la jugulaire sur taureau yak
(Source : Clotilde Sibille)

L'organisation des tournées des vétérinaires pour la collecte des prélèvements est très diverse selon les cas. A Ondor Ulaan, chaque vétérinaire de *bag* a été suivi pendant deux jours (*planning en annexe2*) : le maximum de prélèvements réalisés en une journée a été de 46 taureaux. Ceci ne s'est révélé possible que lorsque les éleveurs, prévenus à l'avance, amènent leurs animaux dans un parc, troupeau après troupeau. A l'inverse, une journée de travail peut se résumer à la récolte de trois prélèvements si les éleveurs ne sont pas prévenus et qu'il faut attendre qu'ils aillent chercher leur taureau puis l'attrapent, en liberté dans la steppe.

A Tariat et Khangai, les vétérinaires ont travaillé plus en collaboration et ont montré une plus grande motivation. En effet, ils ont commencé de faire des prises de sang avant que notre véhicule soit mis à leur disposition, et chacun a continué son travail lorsque nous étions dans d'autres *bags*. Une bonne organisation et un vrai esprit d'équipe entre les différents vétérinaires ont permis une plus grande efficacité qu'à Ondor Ulaan.

A chaque prise de sang, le tube était ensuite numéroté, et le numéro reporté sur une fiche de prélèvement où étaient indiqués la description de l'animal, son âge, son espèce (vache mongole, yak ou hybride) et le nom de son propriétaire (*annexes 3 et 4*).



Photo 4 : Remplissage des fiches de prélèvement

(Source : Clotilde Sibille)

PRELEVEMENT DE LAIT

Ces prélèvements sont utilisés pour les Ring tests sur laits de mélange afin de déterminer une prévalence troupeau de la brucellose. Ils sont toujours récoltés juste après la traite du matin, dans les seaux de lait où sont rassemblés les laits de toutes les femelles du troupeau (généralement 6-7), à l'aide de tubes en plastique stériles sur lesquelles un sparadrap collé indique le nom de l'éleveur. Lors du prélèvement, il est systématiquement demandé aux éleveurs si il y a dans le troupeau des vaches produisant du colostrum, des vaches à mammite ou encore des femelles récemment vaccinées contre la brucellose (tous trois responsables de faux positifs au Ring Test). Une fiche de prélèvement est toujours remplie et accompagne ensuite le prélèvement (*annexe 5*).

3. Dépistage par épreuve à l'antigène tamponné [9, 18]

Les tests Rose Bengale sont réalisés par nous, dans les laboratoires de *sums*, au maximum trois jours après la prise de sang (alors conservée au frais), avec de l'antigène produit en France selon les standards internationaux. Le protocole de réalisation suivi est celui décrit par le manuel de diagnostics de l'Office International des Epizooties :

- Placer l'antigène et les sérums à température ambiante
- Sur une plaque munie de 24 puits, déposer 30 μ L de chaque sérum à tester
- Agiter le flacon d'antigène et en déposer 30 μ L à côté de chacun des sérums
- Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum à l'aide d'un petit bâton propre
- Agiter la plaque pendant 4 minutes **exactement** et lire **immédiatement** : en présence d'anticorps, il se produit une agglutination visible à l'œil nu, tandis qu'en l'absence d'anticorps, le mélange reste homogène.



Photo 5 : Réalisation des tests Rose Bengale au laboratoire d'Onдор Ulaan
(Source : Géraud Laval)

Ce test, bien que sensible, peut révéler des faux positifs, en particulier les animaux vaccinés lorsqu'il se produit une forte réponse en anticorps. Utilisé ici pour le dépistage systématique de masse des mâles reproducteurs des espèces bovine, ovine et caprine, il n'y aura pas de problèmes d'interférences vaccinales puisque seules les femelles sont vaccinées en Mongolie. Cependant, la sensibilité de ce test dépend beaucoup de la technique de réalisation ainsi que de la situation épidémiologique de la maladie dans le pays.

Les mêmes sérums ont été testés simultanément par les vétérinaires de *sum*, formés à la technique Rose Bengale, selon les standards mongols et en utilisant de l'antigène produit par Biocombinat. Le mode opératoire est le même, à ceci près que pour les petits ruminants ils ne mélangent que 15µL de sérum avec 15µL d'antigène, au lieu des 30µL habituels. De plus, les laboratoires de *sum* ne possédant pas de micropipettes automatiques, ils utilisent un porte-pipette avec doseur manuel, qui n'a pas une précision suffisante pour prélever exactement 30µL, et encore moins pour 15µL.

Pour la désinfection du matériel, et en particulier celle de la pipette entre chaque prélèvement de sérum, les vétérinaires utilisent habituellement une solution de chlorure de sodium dilué dans de l'eau distillée.

4. Tests de confirmation

Pour les animaux positifs à l'épreuve à l'antigène tamponné, le tube de sang est centrifugé afin de bien séparer le sérum des globules rouges, puis 1mL de sérum est déposé dans un tube Eppendorf, mis au congélateur pour sa conservation.

Ces sérums sont apportés régulièrement au laboratoire de Tsetserleg, maintenus au froid dans une glacière pendant le transport, et accompagnés d'une fiche de renseignements pour permettre la traçabilité (*annexe 6*).

Les tests de confirmation utilisés sont ceux définis par le programme national de surveillance de la brucellose en Mongolie, à savoir le Test de Séro-Agglutination (SAT) et le Test de Fixation du Complément (CFT), réalisés par une sérologiste au laboratoire de Tsetserleg.

Le principe de l'interprétation des tests en série, selon lequel un animal est considéré malade si et seulement si tous les tests sont positifs, augmente la spécificité et la Valeur Prédictive Positive (tandis qu'il diminue la sensibilité et la Valeur Prédictive Négative). Il faut donc un test de dépistage ayant une forte sensibilité et une spécificité correcte ainsi qu'un faible coût, et un test de confirmation très spécifique.

5. Test de l'anneau sur le lait [9, 18]

Ce test est réalisé sur lait de mélange, dans le laboratoire de la laiterie d'Ondor Ulaan, équipé d'une étuve à 37°C, selon le protocole standard décrit par l'Office International des Epizooties :

- Placer l'antigène 1 heure à température ambiante (18-23°C) avant le début des tests
- Agiter avec soin l'antigène au moment de l'emploi
- Homogénéiser les laits à tester par agitation, puis les répartir en tubes de 1 mL
- Ajouter 50 µL d'antigène, prélevés avec une micropipette de précision
- Mélanger soigneusement et disposer les tubes sur un portoir
- Incuber 1 heure à l'étuve à 37°C, puis 18 à 20 heures entre +2 et +8°C
- Effectuer la lecture : si l'anneau de crème est moins coloré que le lait sous jacent, alors il y a absence d'anticorps, mais si il est plus ou autant coloré que le lait sous jacent (anneau violet à l'interface lait/crème), des anticorps sont présents.

Lorsque ce test est positif, des tests Rose Bengale ont été réalisés individuellement sur toutes les femelles laitières du troupeau.

6. Analyses statistiques

a) Calculs des taux de prévalence et des intervalles de confiance [4, 25]

Les calculs des taux de prévalence sont effectués en utilisant la formule suivante :
Prévalence apparente = nombre d'animaux positifs/ nombre d'animaux testés.
Le taux de prévalence n'est que l'expression de la prévalence sous forme de pourcentage.

La prévalence obtenue ici est calculée à partir du nombre d'animaux positifs au test de dépistage ET aux tests de confirmation. C'est donc une prévalence apparente puisqu'elle est basée non sur le nombre d'animaux malades, mais sur le nombre d'animaux positifs.

La prévalence réelle peut ensuite être calculée avec la formule suivante :
Taux de prévalence réelle = (Taux de prévalence apparente + (Sp-1)) / (Se+Sp-1),
avec Se et Sp : la sensibilité et la spécificité de l'ensemble des tests (soit test de dépistage + tests de confirmation).

Cependant, ne connaissant pas les valeurs de sensibilité et de spécificité de notre test de dépistage dans les conditions spécifiques de la Mongolie, nous ne pourrions pas réaliser ce calcul. En effet, la détermination d'une sensibilité et d'une spécificité absolues pour l'épreuve à l'antigène tamponné est très difficile car ces valeurs dépendent beaucoup de la situation épidémiologique de la maladie. Nous considérerons toutefois que les prévalences calculées ici sont proches des prévalences réelles, puisque la sensibilité et la spécificité obtenues par l'interprétation en série de trois tests diagnostics sont proches de 1.

Les intervalles de confiance à 95% des pourcentages ont été établis à partir de la formule suivante : $IC = [pA - 1,96 \sqrt{(pA \cdot qA / n)} ; pA + 1,96 \sqrt{(pA \cdot qA / n)}]$

avec pA la prévalence apparente et $qA = (1-pA)$
 n la taille de l'échantillon

b) Test du chi deux [4, 25]

Dans le test du chi deux, on compare la distribution observée à une distribution théorique. L'hypothèse nulle consiste à supposer que ces deux distributions diffèrent peu. Si, au contraire, la distribution observée diffère sensiblement de ce qu'avait donné le hasard, il faut rejeter l'hypothèse nulle.

Par exemple, le test du chi deux permet de déterminer si les différences entre plusieurs pourcentages trouvés sont significatives. On pose alors l'hypothèse H_0 : il n'y a pas de différence significative entre les pourcentages.

Puis on construit un tableau de contingence sous la forme suivante :

	Malades	Sains	TOTAL
Facteur X	Uobs (<i>Ucale</i>)	Uobs (<i>Ucalc</i>)	
Facteur Y	Uobs (<i>Ucale</i>)	Uobs (<i>Ucalc</i>)	
TOTAL			

Et on calcule la valeur du chi deux avec la formule :

$$\chi^2 = \text{Somme des expressions } [(U_{\text{obs}} - U_{\text{calc}})^2 / U_{\text{calc}}]$$

avec U_{obs} le pourcentage observé dans notre étude
 U_{calc} le pourcentage théorique calculé

On détermine ensuite le nombre de degrés de liberté régissant chacune de nos valeurs, puis on cherche dans les tables la valeur du chi deux théorique pour ce nombre de degrés de liberté, avec un risque d'erreur fixé à 5%.

Finalement, si χ^2 calculé > χ^2 lu dans la table, cela signifie que les pourcentages diffèrent de façon significative.

c) Test Kappa [28]

Pour donner l'agrément à un test, comme il n'y a souvent pas de gold standard dans les tests diagnostics, il est possible de prouver l'agrément entre deux tests, l'un étant la référence.

Le Test Kappa nous permet ici de mesurer l'agrément entre les tests Rose Bengalee « français » et « mongol » au-delà de ce qui peut être attendu par la chance. Nous avons donc calculé le coefficient de Kappa, qui chiffre l'intensité de l'accord réel entre des jugements qualitatifs appariés. Ce coefficient a un rang de 0 à 1, avec un agrément considéré comme modéré pour des valeurs autour de 0,4-0,5 et bon pour des valeurs supérieures à 0,5.

Il se calcule avec la formule suivante : $K = (P_o - P_e) / (1 - P_e)$

avec : P_o la proportion d'accord observée entre les deux tests

P_e la proportion d'accord aléatoire, ou concordance attendue sous l'hypothèse d'indépendance des jugements

d) « TAGS » : Tests in the Absence of a Gold Standard [20]

Le TAGS est un programme informatique, développé par R.Pouillot et G.Gerbier, permettant d'estimer les valeurs de sensibilité et de spécificité d'un test en l'absence de Gold Standard, et ceci à partir des algorithmes de Newton Raphson et du maximum attendu. Cette estimation est réalisable lorsque le nombre de degrés de liberté fournis par les données est supérieur au nombre de paramètres à estimer. Elle peut donc être utilisée même si le statut réel des animaux vis à vis de la maladie est inconnu ; il suffit de pouvoir l'estimer.

Cependant, certaines conditions doivent être remplies pour pouvoir appliquer cette technique :

- les tests diagnostics doivent être réalisés de façon indépendante aux mêmes animaux et ils ne doivent fournir que des résultats binaires (malade/sain)
- la puissance des tests diagnostics doit être constante lorsque ces tests sont appliqués à différentes populations

Nous allons donc pouvoir utiliser cette méthode pour estimer la sensibilité et la spécificité des tests Rose Bengale réalisés par nous mêmes et par les vétérinaires locaux, en considérant que ces tests sont indépendants puisqu'ils ont été pratiqués par chacun des manipulateurs séparément et sans connaître les résultats de l'autre, qu'ils reposent sur des techniques de réalisation légèrement différentes, et qu'ils n'utilisent pas les mêmes réactifs. Cependant, ces tests consistant tous deux en la détection des mêmes types d'immunoglobulines (IgM principalement), leur indépendance n'est pas totale et nos résultats seront à nuancer.

Enfin, pour augmenter le nombre de degrés de liberté, les animaux soumis aux tests doivent appartenir à plusieurs populations, présentant des prévalences de la maladie inconnues mais différentes. Nous considérerons donc séparément les populations des *sums* de Ondor Ulaan et de Tariat, qui d'après nos premiers résultats (chapitre 6.1) présentent des taux de prévalence de la brucellose significativement différents.

7. Enquête sur les facteurs de risque

Un questionnaire d'enquête a été posé à une trentaine d'éleveurs, choisis aléatoirement parmi tous ceux chez qui nous avons réalisé les prélèvements de sang. Ce questionnaire, composé de cinq parties, visait à déterminer les facteurs de risque majeurs demeurant vis-à-vis de la brucellose en Mongolie (*détail du questionnaire en annexe 7*).

La première partie concernait la gestion de la reproduction des animaux, puis quelques questions étaient posées sur le déroulement des vêlages, et enfin sur les pratiques de commercialisation des animaux. Les deux dernières parties avaient pour but d'évaluer les connaissances des éleveurs sur les symptômes de la brucellose, son aspect zoonotique et les moyens de prévention existant. Cela nous a permis de vérifier ainsi si ils avaient reçu les formations prévues par les vétérinaires de *bag* et ce qu'ils en avaient compris et assimilé.

Ce questionnaire a été rédigé en prenant soin de ne poser que des questions ouvertes, et en tâchant de ne pas trop se baser sur les conclusions tirées par les études antérieures, afin d'être le plus objectif possible. Cependant, un interprète étant nécessaire à l'énoncé de ce questionnaire, il était très difficile de faire respecter ces règles de formulation.

CHAPITRE 3 : RESULTATS [4, 19, 20, 25, 28]

1. Prévalence apparente de la brucellose chez les taureaux

Les tests Rose Bengale, que nous avons réalisés sur 641 taureaux, ont révélé un taux de prévalence apparente de la maladie de 13,7 % sur l'ensemble des trois *sums*, avec un maximum pour le *sum* de Khangai et un minimum pour Tariat. Les résultats par *sum* sont présentés dans le tableau 8 (*détail des résultats par bag en annexe 3*).

Sum	Ondor Ulaan	Tariat	Khangai	TOTAL
Nombre de taureaux prélevés	248	241	152	641
Positifs au Rose Bengale français	36	21	33	90
Sérums confirmés positifs	35	21	32	88
Prévalence apparente [IC à 95%]	14,1 % [9,2 ; 19,0]	8,7 % [5,2 ; 12,2]	21,0 % [10,1 ; 31,9]	13,7 % [11,9 ; 15,5]

Tableau 8 : Prévalence sérologique de la brucellose bovine (sur mâles reproducteurs) dans trois sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT (IC: intervalle de confiance ; CFT : Complement Fixation Test ; SAT : Séro Agglutination Test)

TEST DU CHI DEUX

Le test du chi deux appliqué aux prévalences apparentes de la brucellose dans les différents *sums* nous permet de déterminer si les différences entre les trois pourcentages obtenus sont significatives.

On pose l'hypothèse H_0 : il n'y a pas de différence significative entre les taux de prévalence des trois *sums*.

	Malades	Sains	TOTAL
Ondor Ulaan	35 (34)	213 (214)	248
Tariat	21 (33)	231 (209)	241
Khangai	32 (21)	128 (131)	152
TOTAL	88	572	641

Tableau 9 : Effectifs observés et théoriques des prévalences chez les taureaux des trois *sums*

χ^2 calculé = 12,34

Or d'après les tables, avec deux degrés de liberté et une probabilité de risque de 5%, on trouve $\chi^2 = 5,991$

Donc, si χ^2 calculé $>$ χ^2 lu dans la table, cela signifie que les pourcentages diffèrent de façon significative entre les trois *sums*. Soit la prévalence apparente de la brucellose est significativement plus forte à Khangai qu'à Ondor Ulaan, où elle est significativement plus forte qu'à Tariat.

2. Prévalence apparente de la brucellose chez les petits ruminants

Les tests Rose Bengale pratiqués sur les petits ruminants n'ont révélé quasiment aucun animal positif, mis à part un bélier dans le sum de Tariat, confirmé par la suite par les tests de fixation du complément et de séro-agglutination (*Détail des résultats par bag en annexe 3*).

Sum	Ondor Ulaan	Tariat	Khangai
Nombre de béliers prélevés	377	147	79
Positifs au Rose Bengale français	0	1	0
Sérums confirmés positifs	0	1	0
Prévalence apparente [IC à 95%]	0,0%	0,7% [0,2 ; 1,2]	0,0%

Tableau 10 : Prévalence sérologique de la brucellose ovine (sur mâles reproducteurs) dans trois sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT (IC: intervalle de confiance ; CFT : Complement Fixation Test ; SAT : Séro Agglutination Test)

Sum	Ondor Ulaan	Tariat	Khangai
Nombre de boucs prélevés	247	77	53
Positifs au Rose Bengale français	0	0	0
Sérums confirmés positifs	0	0	0
Prévalence apparente	0,0%	0,0%	0,0%

Tableau 11 : Prévalence sérologique de la brucellose caprine (sur mâles reproducteurs) dans trois sums de l'Arkhangai, en 2006 : dépistage avec le test Rose Bengale et confirmation avec les tests CFT et SAT (IC: intervalle de confiance ; CFT : Complement Fixation Test ; SAT : Séro Agglutination Test)

3. Comparaison de nos résultats avec ceux des vétérinaires mongols

Les épreuves à l'antigène tamponné étant réalisées en simultanément par les vétérinaires mongols dans les mêmes locaux, nous avons pu recueillir les résultats qu'ils obtenaient afin de les comparer avec nos résultats. Nous limiterons cette comparaison aux résultats sur les bovins puisqu'il n'y a eu que très peu de sérums positifs chez les petits ruminants, et ceci avec les deux tests.

Sum	Ondor Ulaan	Tariat	Khangai	TOTAL
Nombre de taureaux prélevés	248	241	152	641
Positifs au Rose Bengale français	36	21	33	90
Sérums confirmés positifs	35	21	32	88
Prévalence apparente « française » [IC à 95%]	14,1 % [9,2 ; 19,0]	8,7 % [5,2 ; 12,2]	21,0 % [10,1 ; 31,9]	13,7 % [11,9 ; 15,5]
Positifs au Rose Bengale mongol	24	15	39	78
Sérums confirmés positifs	22	14	32	69
Prévalence apparente « mongole » [IC à 95%]	8,9 % [5,6 ; 12,2]	5,8 % [3,5 ; 8,1]	21,0 % [10,1 ; 31,9]	10,8 % [9,3 ; 12,3]

Tableau 12 : Comparaison des résultats des tests Rose Bengale réalisés sur les taureaux des trois sums et des prévalences apparentes calculées

Ainsi, les tests réalisés par les vétérinaires mongols ont montré globalement moins de positifs, excepté dans le *sum* de Khangai. Mais il semble y avoir eu un problème de contamination des prélèvements au moment de la réalisation des tests dans ce *sum*.

Le test Rose Bengale tel qu'il a été réalisé dans ces *sums* semble donc moins performant que celui réalisé par nous-mêmes.

TEST KAPPA [28]

		Test français		Total
		Positifs	Négatifs	
Test mongol	Positifs	23	1	24
	Négatifs	13	211	225
Total		36	212	248

Tableau 13 : Tableau de contingence pour les taureaux de Ondor Ulaan

$K = 0,75$

Donc l'agrément entre les tests est bon à Ondor Ulaan.

		Test français		Total
		Positifs	Négatifs	
Test mongol	Positifs	14	1	15
	Négatifs	7	219	226
Total		21	220	241

Tableau 14 : Tableau de contingence pour les taureaux de Tariat

$K = 0,76$

Donc l'agrément entre les tests est bon à Tariat.

		Test français		Total
		Positifs	Négatifs	
Test mongol	Positifs	31	8	39
	Négatifs	2	111	113
Total		33	119	152

Tableau 15 : Tableau de contingence pour les taureaux de Khangai

$K = 0,82$

Donc l'agrément entre les tests est bon à Khangai.

		Test français		Total
		Positifs	Négatifs	
Test mongol	Positifs	68	10	78
	Négatifs	22	541	564
Total		90	551	641

Tableau 16 : Tableau de contingence pour les taureaux des 3 sums

$K = 0,78$

Donc l'agrément entre les tests est bon sur l'ensemble des 3 sums.

« TAGS » : Tests in the Absence of a Gold Standard [20]

En utilisant l'interface HTML du programme TAGS, nous entrons les différents paramètres relatifs à notre étude (*Annexe 10*). Ainsi, le nombre de tests à évaluer est de deux, avec deux populations étudiées, et sans population de référence. Nous avons donc six degrés de libertés.

Le logiciel nous fournit alors les résultats suivants, détaillés en *annexe 11* :

Sensibilité du test **français** = **0,9967**
Spécificité du test **français** = **1**

Sensibilité du test **mongol** = **0,6491**
Spécificité du test **mongol** = **0,9957**

Prévalence estimée dans le sum d'Ondor Ulaan = **14,1%**
Prévalence estimée dans le sum de Tariat = **8,7%**

Ainsi, ces résultats montrent clairement que le test réalisé par nous mêmes avec de l'antigène produit en France est plus sensible que celui réalisé par les vétérinaires mongols avec le réactif de Biocombinat, tandis que les spécificités sont quasiment identiques.

4. Estimation de la prévalence troupeau de la brucellose

La réalisation de Ring tests sur 23 troupeaux de bovins dans le sum d'Ondor Ulaan nous a donné les résultats suivants (*Détail des résultats en annexe 9*).

Nombre de troupeaux testés	23
Nombre de positifs	4
Nombre de douteux	1
Confirmés	2
Prévalence Troupeau	9% (± 3%)

Tableau 17 : Résultats des Ring Tests dans le sum d'Ondor Ulaan

Parmi les laits positifs au Ring Test, deux contenaient du colostrum, qui provoque une réaction faussement positive. Un positif n'a pas pu être confirmé par manque de temps.

Pour les deux autres troupeaux positifs au Ring Test, toutes les vaches laitières ont été testées individuellement à l'épreuve à l'antigène tamponné : dans le premier troupeau, on a trouvé une vache positive, et dans l'autre, deux vaches.

Ainsi, à partir des 23 troupeaux testés au Ring Test, on peut déterminer un taux de prévalence troupeau apparente de **9 %**.

5. Principaux facteurs de risque demeurant vis-à-vis de la brucellose

[1, 3, 5, 6, 7, 13, 16]

a) Régie de la reproduction

Pour les bovins, les meilleurs mâles du troupeau sont laissés entiers, à raison de un taureau pour 50-60 femelles, et restent en liberté dans le troupeau durant toute l'année. Les femelles sont saisonnées naturellement, en raison de conditions climatiques très rudes. Elles ne viennent en chaleur qu'une ou deux fois par an, en juin pour les vaches mongoles et en juillet pour les yaks. Les naissances ont donc lieu entre les mois de mars et mai, où les conditions de vie sont moins difficiles pour les nouveaux nés. Les éleveurs ne font pas de détection précise des chaleurs, mais ils savent quand la saison de reproduction commence en observant le comportement des mâles. Les mâles sont renouvelés environ tous les 2-3 ans, afin d'éviter les problèmes liés à la consanguinité, par échange entre voisins ou par achat à des éleveurs d'autres *sums* ou provinces. Les taureaux peuvent aussi se prêter, parfois à des éleveurs de *sums* voisins.

Pour les petits ruminants, le contrôle de la reproduction est beaucoup plus important puisque les mâles sont séparés du troupeau durant presque toute l'année. Certains éleveurs s'occupent donc de tous les mâles d'une zone qu'ils gardent ensemble, en échange d'un salaire versé par les propriétaires. Puis les mâles sont réintroduits dans leurs troupeaux respectifs pendant le mois d'octobre, afin d'avoir des mises bas en avril-mai.

Les risques de transmission de la brucellose par les taureaux sont donc très importants puisqu'ils peuvent aller monter autant de femelles qu'ils le souhaitent, dans tous les troupeaux environnants. De plus, leurs déplacements sont parfois très importants, notamment lorsqu'ils sont achetés dans une province lointaine, et leur transport étant souvent réalisé à pieds et à cheval, c'est un moyen important de dissémination de la maladie à travers le pays.

b) Gestion des mises bas

La majorité du temps, les avortons et les placentas sont laissés au sol ou donnés au chien, sans que les éleveurs n'en connaissent les risques. Lors d'interventions (rares) dans les mises bas, aucune protection n'est utilisée, que ce soit par le vétérinaire ou par l'éleveur. La cicatrisation du cordon ombilical se fait toujours naturellement et ils ne le coupent jamais eux-mêmes. Occasionnellement, les femelles sont isolées avec leur petit quelques semaines après la mise bas. Quant aux jeunes petits ruminants, ils sont souvent gardés à l'intérieur des yourtes durant leur premier mois, lorsque les températures extérieures sont trop froides. Très peu d'avortements sont constatés.

Une deuxième voie importante de diffusion de la maladie est ici mise en évidence : en effet, le placenta ou l'avorton d'une vache brucellique sont très chargés en bactéries et peuvent être source de contamination pour les autres animaux pendant plusieurs semaines lorsqu'ils sont laissés dans les champs, de même les excréments vaginales de la mère dans les semaines suivant la mise bas. Les chiens sont aussi des très bons vecteurs de la brucellose, une fois qu'ils ont été contaminés en mangeant un placenta.

Quant aux nouveaux nés gardés dans les yourtes, ils sont une source possible d'infection pour l'Homme, car ils sont souvent fortement excréteurs de *Brucella* au cours de leurs premières semaines de vie.



Photo 6 : Enfant portant un jeune chevreau
(Source : Clotilde Sibille)

c) Ventes et achats d'animaux

Concernant les circuits de commercialisation des animaux, la pratique la plus courante semble être la vente d'animaux sur pieds à des marchands de bestiaux qui sillonnent la steppe en camion et vont ensuite les revendre aux abattoirs d'Ulaanbaatar. Les éleveurs peuvent aussi abattre chez eux et vendre la viande eux même dans la ville la plus proche, ou encore emmener les animaux vivants et les faire abattre en ville. La viande bovine est la plus chère, avec un prix qui atteint son maximum à l'automne, période où les marchands de bêtes travaillent. Les éleveurs ne vendent des animaux qu'en cas de besoin ponctuel d'argent liquide (études des enfants, frais médicaux, mariage...). Le plus souvent, ils pratiquent le troc, contre de la farine, du sucre... Ils vendent en moyenne trois bovins et dix moutons par an. Quelques ventes d'animaux ont lieu aussi entre éleveurs, pour agrandir le troupeau ou renouveler les mâles.

Des animaux de différents troupeaux sont donc rassemblés et transportés à travers tout le pays, et les risques de diffusion de la brucellose sont là aussi très forts. Un certificat sanitaire émis par les vétérinaires de *sum* est théoriquement nécessaire pour transporter des animaux, avec la garantie que le troupeau est vacciné contre la brucellose et autres maladies infectieuses, qu'il est apparemment en bonne santé et qu'il n'y a pas d'épidémie en cours dans le *sum*. Mais ce certificat n'est pas toujours demandé lorsque les éleveurs vont vendre leurs animaux eux-mêmes au centre d'*aimag* et des animaux brucelliques sont parfois emmenés à la vente. En effet, les mâles contaminés ne présentant généralement pas de symptômes, ils peuvent être vendus et peuvent contaminer d'autres animaux non vaccinés, au cours de leur transport ou bien avant l'abattage.

d) Formation des éleveurs

Environ 80% des éleveurs interrogés ont effectivement reçu des formations par les vétérinaires de terrain, mais les connaissances qu'ils en retirent ne sont pas toujours très complètes.

Par exemple, la majorité des éleveurs ont une suspicion de brucellose lorsqu'ils ont plusieurs animaux avec des articulations gonflées, mais très peu savent que le premier symptôme de la brucellose est l'avortement. Ce manque de connaissances sur les symptômes de la brucellose représente un obstacle important à l'efficacité de la surveillance passive : une bonne détection des cas passe en effet par une bonne reconnaissance des symptômes de la maladie. Cependant, des études antérieures menées en zone d'enzootie ont effectivement montré que le symptôme le plus courant était alors la boiterie. Pour confirmer cela dans le cas de la Mongolie, il faudrait faire de la bactériologie sur du liquide intra-articulaire.

Ils pensent que le seul mode de transmission de la brucellose entre les animaux est la monte par un taureau infecté. Beaucoup ne connaissent pas le statut vaccinal de leurs animaux vis-à-vis de la brucellose. La possibilité d'infection d'espèces animales autres que les bovins et les petits ruminants est généralement inconnue.

Les modes de transmission à l'Homme sont en général bien connus, mais pas les symptômes de la brucellose humaine. Il est donc probable que beaucoup de gens soient infectés sans le savoir et sans aller se faire soigner.

Le lait est toujours bouilli à plusieurs reprises avant d'être consommé ou utilisé pour la fabrication des produits laitiers, avec une exception pour le lait des chèvres blanches qui semble avoir des vertus curatives pour le foie lorsqu'il est consommé cru. Les risques de contamination humaine par consommation de produits laitiers sont donc faibles.



Photo 7 : Méthode traditionnelle pour bouillir le lait
(Source : Clotilde Sibille)

L'abattage est toujours pratiqué par le chef de famille, par section de l'artère aorte au niveau du cœur, à mains nues. Les risques de contamination humaine sont alors élevés car le sang cru peut être très contaminant. La viande est ensuite cuisinée par l'épouse, toutes les parties étant consommées bouillies, ce qui interdit toute survie de *Brucella*.

CHAPITRE 4 : DISCUSSION ET CONCLUSION [15, 23, 24]

1. Discussion des méthodes

a) Echantillonnage [4, 25]

Pour le calcul de la prévalence apparente chez les mâles reproducteurs, la représentativité de notre échantillon est discutable, puisque comme nous l'avons déjà dit, la sélection des taureaux prélevés n'a pas été aléatoire mais reposait sur les commodités de réalisation des prises de sang. Or les taureaux les plus faciles à attraper sont aussi ceux qui sont le mieux surveillés, et les éleveurs les plus coopérants sont également ceux qui sont le plus suivis par les vétérinaires. Ainsi, le taux de couverture vaccinal est a priori meilleur et la prévalence de la brucellose plus faible dans ces troupeaux. La prévalence réelle est sans doute supérieure à notre prévalence apparente. Cependant, notre échantillon étant très gros par rapport à la sous population totale, notre résultat est assez précis.

Pour le calcul de la prévalence troupeau, notre échantillon était très petit et peu représentatif de la population puisque le lait n'a été prélevé que sur des animaux de deux *bags* de Ondor Ulaan, dans des troupeaux vivant assez près les uns des autres, et plutôt proches du centre sum. Ainsi, cette valeur de la prévalence troupeau est peu précise et peu exacte. Elle sous estime certainement la valeur réelle de la prévalence puisque les troupeaux prélevés, proches du centre sums, sont mieux suivis que la moyenne et ont donc a priori une meilleure couverture vaccinale.

b) Tests diagnostics utilisés [15, 19, 23, 24]

Les taux de prévalence que nous avons calculés ne sont que des estimations, puisque le test de dépistage utilisé n'est pas un test parfait et qu'il laisse donc passer certains animaux infectés. En effet, d'après le docteur Garin-Bastuji, grand spécialiste français de la brucellose, la spécificité du test Rose Bengale est estimée à au moins 99.95 % dans toute situation, mais sa sensibilité, de 70-80% en moyenne, dépend notablement de la situation épidémiologique de la maladie. C'est une méthode plus sensible dans les pays où la maladie est contrôlée, car étant un test assez précoce, il détecte bien les nouveaux infectés. En revanche en situation d'enzootie sans contrôle réel, la proportion d'infectés latents et chroniques est beaucoup plus importante et le Rose Bengale pourrait s'avérer moins sensible. En effet, le test Rose Bengale met en évidence principalement les immunoglobulines M (et un peu les IgG1 et IgG2), et celles-ci ne cessent de diminuer au cours du temps après une infection. Il est donc possible que le test ne détecte pas tous les animaux infectés chroniques, dont le taux d'immunoglobulines M est très faible.

Or, il est fort probable que la brucellose soit présente surtout à l'état enzootique en Mongolie, puisqu'elle n'est pas efficacement contrôlée et que peu de cas cliniques aigus sont observés. Dans cette situation, c'est donc l'ELISA indirecte qui serait la technique la plus sensible [24]. La fixation du complément est également plus sensible lorsque la maladie est enzootique, mais sa réalisation demande un matériel cher et perfectionné ainsi qu'un personnel correctement formé.

Une étude a été réalisée par A.P. Mac Millan [15] sur la validité du test Rose Bengale pour le dépistage de la brucellose chez les petits ruminants. Elle tendrait à démontrer que les antigènes utilisés pour le test Rose Bengale, standardisés pour le dépistage de *Brucella abortus* chez les bovins, ne sont pas adaptés à la détection de *Brucella melitensis* chez les petits ruminants, et que la sensibilité de ce test est donc bien moindre chez ces derniers.

D'après le docteur Garin-Bastuji, un dépistage efficace de la maladie chez les petits ruminants nécessite de tester tous les animaux en double, avec une épreuve à l'antigène tamponné plus une fixation du complément, puisque leur taux d'anticorps est souvent faible. Une autre technique visant à augmenter la sensibilité a été utilisée en Espagne : elle consiste à modifier le titre en antigènes du réactif Rose Bengale. En effet, un titre plus faible en antigène permet de détecter des animaux ayant un taux plus faible d'anticorps.

Concernant les tests de confirmation, le test de fixation du complément est effectivement recommandé par l'Office International des Epizooties comme test de confirmation. Cependant, c'est un test très difficile à réaliser et un agrément officiel de l'Office International des Epizooties est normalement nécessaire pour pouvoir valider sa réalisation dans un laboratoire. En revanche, le test de séro-agglutination est déclaré peu performant par l'Office International des Epizooties.

c) Analyses statistiques [20, 28]

Les résultats du test kappa montrent l'existence d'un « bon » agrément entre les tests Rose Bengale « français » et « mongol ». Cependant, il est pour nous insuffisant car nous aurions souhaité un résultat très proche de 1. En effet, le test Rose Bengale, utilisé ici comme test de dépistage, doit permettre la détection d'un maximum d'animaux malades, et les 22 faux négatifs avec le test mongol (c'est-à-dire les animaux trouvés négatifs avec le test mongol mais en réalité positifs avec le test français, et confirmés par CFT et SAT) ne devraient pas exister si leur test était bon.

De plus, le test kappa ne tient pas compte de la proportion des positifs au Rose Bengale qui ont été confirmés, pour chacun des tests (mongols et français) : il ne prend pas en compte la sensibilité et la spécificité de chaque test. L'agrément qui existe entre les tests ne signifie donc pas forcément que ces deux tests ont les mêmes puissances.

Pour le TAGS, comme nous l'avons expliqué plus haut, l'indépendance de nos deux tests n'est pas totale et les valeurs de sensibilité et de spécificité calculées devront donc être considérées comme de simples estimations, non comme des valeurs exactes.

2. Discussion des résultats

a) Prévalence de la brucellose bovine

En comparant les résultats que nous avons obtenus cette année au terme de la campagne de prophylaxie à ceux des années précédentes, il apparaît clairement que le système actuel de surveillance de la brucellose en Mongolie sous-estime largement la prévalence de cette maladie.

Année	2005	2006
Prélèvements réalisés/ Prélèvements prévus	324/840 = 39%	662/800 = 83%
Prévalence dans les 3 sums	4,3%	13,7%

Tableau 18 : Résultats des tests de dépistage des taureaux réalisés en 2005 et en 2006 dans les sums d'Ondor Ulaan, Tariat et Khangai (Source : Résultats recueillis par Géraud Laval, AVSF, 2005)

Année	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Prévalence	0,4%	0,4%	0,0%	0,13%	?	1,1%

Tableau 19 : Taux de prévalence de la brucellose en Arkhangai de 2000 à 2005 (Source : Services vétérinaires de l'Arkhangai)

La probabilité que la prévalence de la maladie ait triplé en un an étant très faible, ces résultats nous prouvent donc qu'elle est depuis longtemps sous estimée (cependant, les résultats pour l'année 2006 ne sont pas encore disponibles). Le fort taux de séroprévalence de la brucellose chez les éleveurs et les professionnels de santé animale est une autre preuve que la maladie doit être très répandue chez les animaux.

Nos résultats sont meilleurs que ceux des années précédentes parce que nous avons réalisé les tests avec rigueur, selon les standards internationaux, mais surtout parce que notre échantillon était bien plus gros que les années précédentes, comme nous pouvons le remarquer dans le tableau 18.

Les différences de prévalence entre les trois sums peuvent s'expliquer par une meilleure couverture vaccinale à Tariat que dans les deux autres sums. Ou alors il est possible que dans le *sum* de Tariat nous ayons prélevé moins d'animaux vivant dans les zones reculés, et que notre échantillon soit donc biaisé (les animaux proches du centre sum sont souvent les mieux vaccinés).

Le nombre élevé d'animaux positifs à Khangai est à relativiser puisque vingt prélèvements du *bag* de Tekh y ont été faits avec un même trocart. Il y a donc pu y avoir contamination des prélèvements, ce qui nous aurait conduit à surestimer la prévalence de la maladie dans ce *bag*.

Quand à la prévalence troupeau de la brucellose bovine, notre échantillon étant trop petit et peu représentatif, il est probable que notre résultat sous estime fortement la réalité. En effet, les études antérieures révèlent des valeurs plutôt proches de 50%.

b) Prévalence de la brucellose chez les petits ruminants

Pour les petits ruminants, la campagne de 2005 avait révélé une prévalence de la maladie de 0% chez les ovins et les caprins dans les trois *sums* de l'étude. Nous avons également trouvé une prévalence nulle chez les caprins cette année, et une très faible chez les ovins.

Cependant, il semble évident qu'il existe un problème de sensibilité du test utilisé. En effet, étant donnée la forte prévalence qui existe chez les bovins, il est presque certain qu'une part non négligeable de la population ovine et caprine est également infectée, les troupeaux étant fréquemment mélangés en Mongolie. De plus, la bactérie isolée en Mongolie chez les patients humains est le plus souvent *Brucella melitensis*.

c) Comparaison de nos résultats avec ceux des vétérinaires mongols

En ce qui concerne les tests réalisés par les vétérinaires mongols, nous n'avons pas pu suivre le travail de la vétérinaire de Khangai, qui a effectué ses tests quelques jours après nous. Le nombre de positifs étant très élevé dans ce *sum*, nous suspectons de mauvaises pratiques de laboratoire et une contamination des prélèvements lors de leur manipulation. C'est pourquoi, nous n'avons pas pris en compte ces résultats pour l'estimation de la sensibilité et de la spécificité du test, pour laquelle nous avons utilisé uniquement les résultats obtenus à Ondor Ulaan et Tariat.

De façon générale, ces tests pratiqués par les vétérinaires de terrain, suivant les standards mongols et avec de l'antigène produit localement, ont des performances inférieures à celles du test Rose Bengale pratiqué selon les standards internationaux, ce qui peut entraîner une sous évaluation grave de la prévalence de la maladie. Cela peut s'expliquer de différentes façons :

- Le Rose Bengale fabriqué par Biocombinat peut être de mauvaise qualité. En effet, il est très difficile d'obtenir des informations sur le procédé de fabrication de ce Rose Bengale, mais d'après les tests effectués au laboratoire de l'AFSSA en 1999, il ne suivait pas les standards internationaux. Le responsable de la production de ce réactif à l'usine Biocombinat, rencontré à Ulaanbaatar, affirme lui qu'ils suivent les recommandations de l'Office International des Epizooties mais qu'ils n'ont pas fait la demande d'homologation de leur produit pour la simple raison qu'ils ne l'exportent pas.

Un flacon de ce produit a été ramené en France et est actuellement en cours d'analyse au laboratoire OIE/FAO de référence pour la brucellose animale (Dr B. Garin-Bastuji. AFSSA Alfort, Unité Zoonoses Bactériennes) à Paris afin de contrôler à nouveau sa qualité.

- Les vétérinaires, nouvellement formés à cette technique, commettent des erreurs lorsqu'ils réalisent le test. En effet, l'oubli des quatre minutes d'agitation avant la lecture est très fréquent et conduit à l'obtention de faux négatifs. De même le nettoyage insuffisant de la pipette entre chaque prélèvement de sérum peut conduire à contaminer les prélèvements et à révéler des faux positifs. Ces problèmes de manipulation/interprétation des résultats, détaillés par la suite, sont une preuve de l'insuffisance de la formation dispensée. Cela sera pris en compte à l'avenir, si d'autres formations sont faites ailleurs. Cependant, notre présence aux côtés des vétérinaires durant cette première année de fonctionnement a permis un complément de formation qui fait que les vétérinaires des trois *sums* sont maintenant opérationnels.

d) Facteurs de risque vis-à-vis de la brucellose

Il semble que les modes de transmission de la maladie soient assez mal connus par les éleveurs et que les risques de transmission soient très importants, non seulement au sein d'un troupeau, mais aussi entre différents troupeaux.

La transmission de la brucellose par les mâles reproducteurs est bien connue par les éleveurs, qui peuvent donc en limiter les effets. De plus, si toutes les femelles sont vaccinées, comme le recommande le programme national de surveillance, en cas de contamination par un mâle, elles ne continueront pas à diffuser la maladie car le vaccin réduit fortement le risque d'avortement. Le testage annuel de tous les mâles, avant le début de la saison de reproduction, est aussi un bon moyen de limiter ce mode de diffusion de la brucellose, à condition qu'il soit systématique et que les positifs soient rapidement abattus.

L'abandon des placentas et des avortons dans les champs ou aux chiens est un facteur important de propagation de la brucellose, mais également d'autres maladies. Il semble donc important de sensibiliser les éleveurs à ce problème, mais il est très difficile et long de faire changer ce genre de pratiques.

La réglementation relative au transport d'animaux permet de limiter la diffusion de la maladie à travers le pays, mais plus de contrôles sont nécessaires. En effet, lors du transport à pieds d'animaux isolés, il n'y a souvent pas de certificat vétérinaire et des animaux malades peuvent alors disséminer la brucellose.

Les pratiques alimentaires sont sans risque pour la santé humaine, mais certaines pratiques d'élevage ainsi que d'abattage sont très risquées pour les éleveurs.

Ces données ayant été tirées d'une trentaine d'interviews seulement, elles ne sont pas forcément représentatives de tous les éleveurs, d'autant plus que les éleveurs qui acceptent d'y répondre sont souvent les mêmes qui suivent les formations. Cependant, beaucoup des réponses obtenues allaient dans le même sens, et concordaient aussi avec les données recueillies par d'autres enquêtes [3,5,16]. Le recours à un interprète pour la réalisation des ces questionnaires est également un biais à ne pas négliger. En effet, il est difficile d'obtenir une traduction fidèle, et les formulations des questions sont très souvent modifiées.

3. Conclusion

Cette étude a finalement mis en évidence l'existence d'une forte prévalence de la brucellose bovine dans ces trois *sums* de l'Arkhangai. En effet, le manque de données sur le nombre total de bovins et sur le statut vaccinal des animaux, ainsi que l'absence d'infrastructures performantes, de moyens et de personnel solidement qualifié rendent impossible une étude de prévalence précise. Cependant, nous avons pu mettre en avant un fait essentiel, à savoir que le programme de lutte mis en place contre cette zoonose en Mongolie n'était pas suffisamment efficace, et qu'une grande partie du cheptel était encore atteint, sans que les autorités sanitaires du pays n'en soient conscientes.

A l'avenir, il semble donc nécessaire d'améliorer le système de surveillance de la brucellose et d'intensifier les mesures de lutte. La mise en place d'une surveillance active réalisée par les vétérinaires de terrain est une bonne méthode pour rendre cette surveillance plus performante, mais elle doit s'accompagner de formations sérieuses et continues afin que le test Rose Bengale puisse être le plus performant possible.

L'Epreuve à l'Antigène Tamponné, dans un contexte de brucellose enzootique comme en Mongolie, n'est pas le test idéal pour dépister la brucellose, puisque les animaux infectés chroniques passent souvent inaperçus avec cette méthode. Cependant, il reste le test le plus adapté en raison de sa facilité de réalisation et de son faible coût.

Cette étude sur les performances des tests Rose Bengale réalisés dans les laboratoires de *sum* nous a permis de faire une analyse critique de la mise en application des stratégies de surveillance de la brucellose sur le terrain. Dans la partie qui suit, nous allons donc énumérer les problèmes pratiques qui peuvent expliquer pourquoi la prévalence de la brucellose est généralement sous estimée, mais aussi pourquoi cette maladie est encore si présente en Mongolie. Nous proposerons par la suite quelques solutions adaptées visant à rendre le réseau d'épidémiosurveillance mongol plus performant et à faire diminuer la prévalence de la brucellose.

**TROISIEME PARTIE : ANALYSE CRITIQUE
DU SYSTEME
D'EPIDEMIOSURVEILLANCE MONGOL
ET PERSPECTIVES D'AMELIORATION**

CHAPITRE 1 : LACUNES ET INCOHERENCES IDENTIFIEES

1. Problématiques de terrain

a) Prélèvements

Le fait d'avoir suivi les vétérinaires dans leurs tournées pour la réalisation des prises de sang sur les mâles reproducteurs nous a permis d'identifier certains problèmes à ce niveau, expliquant en partie pourquoi les exigences de l'*aimag* sur le nombre de prélèvements à réaliser ne sont que rarement satisfaites.

ORGANISATION DE LA COLLECTE

Une des choses les plus frappantes a été le manque d'organisation des vétérinaires lors de la collecte des prélèvements. En effet, beaucoup ne préviennent pas les éleveurs à l'avance de leur venue mais passent à l'improviste, de yourte en yourte, et demandent aux éleveurs d'aller attraper leur taureau pour pouvoir leur prélever du sang. Les éleveurs étant souvent absents, ou occupés au moment où le vétérinaire arrive, la prise de sang ne peut pas être faite. Le fait de prévoir les tournées à l'avance et d'en informer les éleveurs permet une plus grande efficacité et un gain de temps énorme : les taureaux sont gardés attachés près de la yourte jusqu'au passage du vétérinaire, et celui-ci n'a pas besoin d'attendre que quelqu'un aille les chercher à cheval (parfois loin) dans la steppe. De plus, les éleveurs du *khot ail*, lorsqu'ils sont informés de la venue du vétérinaire, s'entraident généralement pour attraper et contenir correctement les animaux, ce qui offre au vétérinaire plus de sécurité et de commodité pour travailler.

MOTIVATION DES ELEVEURS

Un manque de motivation et d'implication de la part des éleveurs dans la lutte pour la santé animale en amène certains à refuser catégoriquement d'attraper leurs taureaux. Dans ces cas là, le vétérinaire n'a aucun moyen de pression pour les faire obtempérer, puisqu'il n'existe pas d'obligation légale de faire tester ses animaux pour la brucellose, ni d'avoir un certificat d'indemnité pour vendre des produits animaux. De plus, très peu d'éleveurs commercialisent régulièrement leurs produits selon des circuits autres que les marchands de bestiaux et ceux-ci n'exigent pas de certificat sanitaire pour acheter des animaux.

TECHNICITE DES VETERINAIRES

Un autre problème est que beaucoup de vétérinaires sont mal formés sur l'utilisation du matériel de prélèvement moderne, notamment les vacutainers. Ils utilisent souvent « la vieille méthode », en plantant d'abord l'aiguille dans la veine, puis en plaçant le tube ouvert dessous et en le remplissant au goutte à goutte. Nous avons même vu un vétérinaire utiliser le même trocart pour prélever tous les animaux. Certains, surtout les jeunes, n'ont simplement pas été formés à la réalisation des prises de sang (aiguilles plantées dans le sens du flux de sang, ou en aval du point de compression, animaux contenus de telle façon que la veine jugulaire est compressée...)



Photo 8 : Prise de sang à la veine jugulaire sur taureau couché

(Source : Clotilde Sibille)

La possibilité de prélever le sang à la veine caudale, notamment lorsque la veine jugulaire est trop difficile ou trop dangereuse d'abord, comme dans les couloirs des parcs de contention, n'est généralement pas connue par les vétérinaires.

INFRASTRUCTURES VETERINAIRES

Le manque d'infrastructures est parfois gênant pour la réalisation des prises de sang. En effet, lorsque tous les éleveurs du *bag* amènent leurs animaux dans un parc muni d'un couloir de contention, le vétérinaire économise du temps et de l'essence, et le nombre de prises de sang réalisées dans la journée est bien plus important (record de 46 taureaux prélevés en une demi-journée).



Photo 9 : Séance de vaccination dans un couloir de contention

(Source : Clotilde Sibille)

Cependant, cela demeure impossible dans certains *bags*, lorsqu'il n'y a pas de couloir de contention, ou bien trop loin des *khot ails* principaux, ou encore que les éleveurs refusent d'y emmener leur troupeau.

Le travail dans les couloirs de contention offre également plus de sécurité que lors de contention uniquement humaine des animaux, souvent mauvaise par manque de « bras » (lorsque l'éleveur est tout seul), ou d'attention. En effet, les taureaux, de parfois plus de 600 kilos, sont souvent simplement contenus par une personne tenant la longe d'un licol... Cependant, les couloirs de contention ne sont pas toujours très adaptés à la réalisation des prises de sang à la jugulaire: l'espace entre les rondins de bois est insuffisant pour œuvrer confortablement, et ils sont souvent trop larges, permettant facilement à deux ou trois animaux de se mettre côte à côte. Les vétérinaires sont alors obligés d'adopter des positions très dangereuses.

b) Techniques de laboratoire

La réalisation des tests Rose Bengale aux côtés des vétérinaires de *sums* nous a permis de les observer pendant leur travail, et de déceler quelques erreurs récurrentes, qui peuvent expliquer en partie pourquoi tous les animaux infectés ne sont pas détectés.

PROTOCOLE

La première cause d'erreur, qui concerne l'application du protocole de réalisation du test, est l'oubli de la phase de mélange des sérums avec le Rose Bengale pendant quatre minutes. En effet, la plupart des vétérinaires n'agitent la plaque qu'une minute ou deux, ou bien laissent reposer pendant quatre minutes sans agiter. Or, les sérums douteux et légèrement positifs n'entraînent une agglutination que si cette phase d'agitation est rigoureusement respectée. Nous avons d'ailleurs pu remarquer que la plupart des animaux infectés non détectés par les vétérinaires étaient des faiblement positifs ou des douteux (mais confirmés ultérieurement au laboratoire d'*aimag*).

MANIPULATEURS

Plus généralement, le test Rose Bengale est un test sensible, à condition qu'il soit réalisé avec beaucoup de rigueur, d'autant plus lorsque les conditions matérielles ne sont pas optimales. Or nous avons remarqué parfois un peu trop de négligence de la part des vétérinaires de *sum*, par simple désintérêt, ou alors parce qu'ils trouvent anormal de ne pas être payés pour ce travail relativement contraignant. Une lassitude est donc possible, avec des conséquences importantes sur l'efficacité de la surveillance, si un système de rémunération n'est pas mis en place rapidement.

MATERIEL

Une autre difficulté réside dans la qualité des pipettes utilisées dans les laboratoires de *sum*. En effet, leur porte pipette ne permet pas un dosage très précis des 30 μL d'antigène et de sérum, et encore moins de 15 μL (dosage recommandé par les standards mongols pour les petits ruminants). Cependant, nous avons insisté sur l'importance de déposer deux gouttes de même volume dans chaque puits, même si elles ne sont pas exactement de 30 μL , et il semble que cela soit réalisable.

Ces pipettes étant à usage multiple, elles doivent être nettoyées entre chaque prélèvement de sérum. Les vétérinaires utilisent pour cela une solution d'eau distillée dans laquelle est dissout du chlorure de sodium, dont le pouvoir bactéricide est absolument nul (tout le matériel de laboratoire est d'ailleurs nettoyé avec cette solution). Pour une désinfection correcte, après un premier rinçage à l'eau, il faudrait nettoyer les pipettes avec une solution d'acide acétique (qui provoque une lyse des globules rouges, une altération et un détachement des immunoglobulines...), puis les rincer à l'eau distillée et les sécher parfaitement.



Photo 10 : Pipetage de Rose Bengale avec un porte pipette doseur

(Source : Géraud Laval)

Toujours dans les contraintes matérielles, la température ambiante qui règne dans les laboratoires, généralement proche de 10°C au mois de mai, est trop faible pour permettre la réalisation du test dans les conditions optimales (18-23°C). La température du Rose Bengale et des sérums est donc souvent insuffisante pour obtenir une bonne sensibilité du test, d'autant plus que les vétérinaires omettent souvent de les réchauffer (au moins une heure à température ambiante selon les recommandations du fabricant) et aussi de l'agiter pour remettre les bactéries en suspension avant son utilisation.

QUALITE DES PRELEVEMENTS

Certains vétérinaires prélèvent le sang en quantité insuffisante (à mettre en relation avec les contraintes de terrain évoquées plus haut), ce qui rend difficile le pipetage du sérum, même après centrifugation, et ne permet pas toujours de récupérer un millilitre, nécessaire pour la réalisation des tests de confirmation (*cf figure 5*).

Le sang peut être partiellement hémolysé lorsqu'il a été trop agité, ou exposé à des températures trop importantes, ou encore conservé dans un réfrigérateur trop puissant (congélation!). L'hémolyse rend la lecture du test Rose Bengale plus difficile, et il interdit la mise en œuvre du test de fixation du complément.

Il est très rarement fait usage de la centrifugeuse pour purifier les sérums qui sont troubles, ce qui rend moins facile l'interprétation des résultats.

3. Insuffisances logistiques et institutionnelles

a) Niveau local

Au niveau de la zone d'étude, les responsables de l'organisation logistique de la prophylaxie sont les chefs d'unité vétérinaire de *sum* (2 à Ondor Ulaan, 1 à Tariat, et 1 à Khangai): ils ont un mandat sanitaire vis-à-vis de l'administration et sont chargés de la réalisation des actes vétérinaires (dont la vaccination et la surveillance) et de l'envoi des prélèvements. Leur rôle est donc primordial pour la réalisation d'une surveillance de qualité, et des problèmes de logistique peuvent avoir des conséquences importantes.

Le projet AVSF a mis en place des « Comités de santé animale », dont le rôle est d'améliorer l'organisation des campagnes, par le biais de réunions rassemblant des représentants d'éleveurs, des autorités locales et les vétérinaires. Ces comités sont un moyen de rencontre et d'échanges et ils sont coordonnés par un animateur.

Un problème dans la distribution de l'antigène par le Laboratoire de Tsetserleg a entraîné un ralentissement dans la réalisation des tests de dépistage. La vétérinaire de Khangai n'a ainsi pas pu faire ses tests en temps voulu car on ne lui avait pas fourni le Rose Bengale. A Ondor Ulaan, le flacon fourni était trop petit pour le nombre de tests à réaliser et un manque de réactif a provoqué un arrêt provisoire du travail de laboratoire, et donc une augmentation du délai entre le jour de prélèvement et les résultats de la confirmation.

Un nombre insuffisant de tubes secs et d'aiguilles a également obligé plusieurs vétérinaires à mettre fin à leur collecte d'échantillons sanguins alors que des taureaux restaient encore à prélever. En effet, pour Tariat par exemple, seulement 550 tubes ont été distribués pour un nombre d'animaux à prélever de 540! Or il existe toujours des pertes en tubes, d'autant plus lorsque la contention des animaux est mauvaise et que les vétérinaires sont peu entraînés à faire des prises de sang.

Il n'existe pour le moment pas de procédures strictes pour le transport des sérums à confirmer jusqu'à Tsetserleg (*cf figure 5*), ainsi que pour la redescende des résultats jusqu'aux vétérinaires de terrain. Or, il est important que ces flux de données soient efficaces si l'on souhaite motiver les différents acteurs (vétérinaires, éleveurs) et rendre effectif l'abattage des animaux brucelliques avant le début de la saison de reproduction. Le projet AVSF est en train d'organiser ces flux de prélèvements et ces procédures seront systématisées pour la prochaine campagne.

Cependant, certains points forts sont à souligner dans notre zone d'étude, comme l'existence d'un réseau de vétérinaires important, qui couvrent bien le territoire, et la distribution par AVSF de motos à tous les vétérinaires de ces trois *sums*, qui leur permet d'aller plus régulièrement visiter les éleveurs, même les plus éloignés.

b) Niveau national

Au niveau national, les stratégies de surveillance élaborées par le ministère de l'alimentation et de l'agriculture, en collaboration avec les Départements de l'alimentation et de l'agriculture des *aimags* montrent de nombreuses incohérences.

Tout d'abord, comme nous l'avons dit plus haut, le nombre de prises de sang exigé par les autorités de l'*aimag* est décidé en fonction des chiffres établis par le recensement annuel. Or ces chiffres reposent sur les comptages réalisés chez les éleveurs, et ces derniers ont tendance à mentir sur le nombre de leurs animaux afin de minimiser les taxes qu'ils ont à payer, d'un montant proportionnel à la taille de leur troupeau. Ainsi, alors qu'une bonne surveillance imposerait de dépister 100% des mâles reproducteurs des trois espèces, le nombre de prélèvements exigé ne représente, d'après nos estimations, que 70% du cheptel réel pour les petits ruminants et ne semble pas correspondre non plus à la totalité des bovins. Les mêmes chiffres étant utilisés pour le calcul du nombre de doses de vaccins envoyés à chaque *sum*, il y a généralement moins de vaccins que de femelles à vacciner et le taux de couverture vaccinal en est diminué.

De plus, la rémunération des vétérinaires par le gouvernement pour la réalisation de ces prises de sang étant très faible (70 *tügrigs*, soit 5 centimes d'euros), cela ne contribue pas à leur motivation. La communication par le gouvernement sur les enjeux globaux de cette surveillance étant très mauvaise, les vétérinaires comme les éleveurs ne se sentent pas forcément concernés par cette maladie, et ne voient pas l'intérêt d'y consacrer du temps et de l'argent. Leurs connaissances à propos de la brucellose et de l'épidémiosurveillance sont aussi insuffisantes. Les vétérinaires de notre zone étaient très mal informés et formés sur l'épidémiologie de la maladie et sur la stratégie de surveillance mise en place.

Cependant, le projet AVSF a fait de gros efforts de communication, notamment auprès des éleveurs, en organisant des formations, menées par les vétérinaires de *bag*, et en distribuant des brochures dans toutes les yourtes. Concernant les professionnels de santé animale, une formation de huit jours sur les réseaux d'épidémiosurveillance a été organisée récemment par AVSF et le CIRAD-EMVT. Cela nous a permis de constater que les lacunes étaient très importantes dans ce domaine, et que ce type de formation devrait être renouvelé et impliquer systématiquement les vétérinaires de terrain, premier maillon du réseau d'épidémiosurveillance avec les éleveurs.

La communication sur les enjeux en santé publique, réalisée principalement par AVSF et l'ONG Mercy Corps (posters, tracts, formations...) semble avoir porté ses fruits et les connaissances dans ce domaine sont généralement bonnes.

Au niveau de l'évaluation de la surveillance, un dépistage complet de tous les bovins, mâles et femelles, est prévu pour l'année 2007 dans la province de l'Arkhangāi, avant le renouvellement de la vaccination de masse des femelles, afin d'évaluer l'efficacité de la lutte. Or le test au Rose Bengale ne permet pas de différencier les anticorps vaccinaux des naturels et il est établi que les anticorps vaccinaux peuvent persister de nombreuses années chez certains individus [19]. Il risque donc d'y avoir beaucoup de faux positifs et la prévalence trouvée sera inexacte.

En effet, la prophylaxie médicale est faite avec le vaccin S19, injecté au cou en sous-cutanée à la dose de 2mL, contenant 10 milliards de bactéries. Ce vaccin à cette dose, d'après les données de l'Office International des Epizooties, entraîne une réaction en anticorps persistants chez 5 à 10% des animaux. Mais Biocombinat, qui produit le vaccin utilisé en Mongolie, affirme dans son manuel descriptif des caractéristiques du vaccin, qu'il n'y a plus d'anticorps interférant avec les tests sérologiques au bout de deux ans.

Il n'existe enfin aucune mesure pour contrôler que la castration et l'abattage des animaux confirmés positifs soient bien réalisés. D'après leurs dires, il semble que les éleveurs ne sont pas contre le fait d'abattre les animaux brucelliques, mais il existe un délai certain entre la réalisation des tests, la transmission des résultats, puis la castration/abattage. De plus, certains vétérinaires réalisent eux-mêmes les castrations, mais d'autres refusent de le faire car ils ne sont pas rétribués pour cela. Ce sont donc souvent les éleveurs qui le font eux-mêmes, et pensant que le simple fait de castrer suffit à empêcher la transmission de la maladie, ils n'abattent pas forcément ces animaux. Un abattage systématique des animaux brucelliques doit absolument être organisé si l'on veut réellement faire diminuer la prévalence de la maladie.

CHAPITRE 2 : AMELIORATIONS ENVISAGEES ET LIMITES

1. Apports directs de cette étude

Au cours du suivi de cette campagne de prophylaxie, il nous a été possible d'apporter des conseils directs aux acteurs de terrain, et d'améliorer ainsi la réalisation du dépistage des animaux dans la zone du projet.

Tout d'abord, le fait de suivre cette campagne de prophylaxie de près a été l'occasion de faire prendre conscience aux vétérinaires de terrain que la brucellose était encore très présente en Arkhangai et qu'une surveillance accrue était réellement nécessaire pour en limiter l'expansion. Un regain de motivation due à notre présence leur a aussi permis de se rendre compte qu'il était possible de prélever beaucoup d'animaux en peu de temps en s'organisant correctement et en expliquant l'intérêt de cette surveillance aux éleveurs. En effet, le nombre de prélèvements réalisés cette année a été nettement supérieur aux années précédentes, comme le montre le tableau suivant :

	Ondor Ulaan	Tariat	Khangai	TOTAL
Nombre de prises se sang sur taureaux en 2005	59	166	99	324
Nombre de prises se sang sur taureaux en 2006	249	252	161	662

Tableau 20 : Nombre de prélèvements réalisés sur les taureaux au cours des étés 2005 et 2006
(Source : Services Vétérinaires de l'Arkhangai)

Pour entretenir cette motivation, il est nécessaire d'informer régulièrement les personnes concernées par la brucellose sur son importance, et en particulier sur ses conséquences économiques et en santé publique. Ceci est réalisé par l'intermédiaire des formations dispensées aux éleveurs et aux vétérinaires. Tout au long de notre étude, nous avons pu faire des rappels aux vétérinaires avec lesquels nous travaillions, sur l'épidémiologie de la brucellose et sur ses conséquences en matière de commercialisation.

Des rencontres entre les vétérinaires, les autorités locales et des représentants d'éleveurs des différents sums, sont aussi à organiser régulièrement pour aider à l'organisation de ces campagnes de prophylaxie. AVSF a mis cela en place grâce à la création des Comités de santé animale de *sum*, qui réunissent régulièrement l'ensemble de ces acteurs.

De nouvelles estimations du nombre de mâles reproducteurs par *sum* peuvent être faites à partir des données sur le nombre d'animaux vaccinés contre l'entérotaxémie cette année. En communiquant ces informations aux administrations des *sums*, qui participent aux comités de santé animale, et qui ont le mandat de faire les recensements, les méthodes de recensement pourront être améliorées. Cela évitera par la même occasion que les tubes, aiguilles et réactifs soient distribués en trop petite quantité.

Pour résoudre le problème des éleveurs récalcitrants, une solution assez efficace a été de réaliser les prises de sang en même temps qu'une vaccination (par exemple la vaccination contre la pasteurellose, qui se déroule environ à la même période). Les troupeaux sont alors amenés au complet et en temps voulu. On pourrait envisager de systématiser ce mode de fonctionnement à l'avenir.

Le questionnaire réalisé auprès d'une trentaine d'éleveurs a montré que les formations faites par les vétérinaires de *bag* n'étaient pas toujours bien comprises. Durant nos visites, nous avons pu faire quelques rappels à ce sujet, mais il est absolument nécessaire de continuer ces formations et d'insister plus sur les mesures à prendre pour limiter les risques de propagation de la brucellose, en tenant compte des principaux facteurs de risque identifiés. Les vétérinaires, qui étaient souvent avec nous lors de ces interviews, ont donc pu voir par eux-mêmes quelles étaient les connaissances retenues ou non par les éleveurs à l'issue de ces formations.

Au cours des journées de prélèvements, il nous a été possible de former quelques uns des vétérinaires aux techniques de réalisation des prises de sang, ainsi qu'à l'utilisation des vacutainers. Nous leur avons expliqué à tous le principe du tube sous vide qui permet l'aspiration du sang et l'importance de n'utiliser qu'une fois chaque aiguille. Nous les avons aussi initiés aux prises de sang à la queue, qui sont parfois moins dangereuses et plus faciles à réussir qu'à la jugulaire.



Photo 11 : Prise de sang sous la queue sur un taureau yak

(Source : Clotilde Sibille)

Pour ce qui est de la réalisation des tests Rose Bengale dans les laboratoires de *sums*, notre présence pour cette première année de dépistage par les vétérinaires de *sum* nous a permis de finaliser leur formation et de corriger certaines de leurs erreurs. Un panneau rappelant le protocole du test a été affiché dans chaque laboratoire, insistant sur les points importants à respecter (par exemple le temps d'agitation de 4 minutes avant la lecture). Certains vétérinaires ayant réclamé des micropipettes automatiques à la place du porte pipette manuel, afin de simplifier les manipulations et de rendre plus précis le dosage de sérum et d'anticorps, ce matériel leur sera fourni pour la saison prochaine, tandis qu'ils s'engagent à acheter eux-mêmes tous les ans les cônes en plastique nécessaires à leur fonctionnement. L'utilisation d'acide acétique, plutôt que du chlorure de sodium, doit être adoptée pour le nettoyage des pipettes en verre.

2. Propositions d'améliorations au niveau national

Nos résultats seront transmis au ministère de l'agriculture afin de leur faire prendre conscience du manque d'efficacité des moyens de lutte mis en œuvre contre la brucellose et de proposer certains changements visant à mettre en place un système plus performant.

Ainsi, le système de recensement du bétail doit être amélioré, afin d'obtenir des données plus exactes sur les populations animales vivant en Mongolie. Ceci serait possible en le professionnalisant, puisque ce sont actuellement les éleveurs qui font eux-mêmes le recensement : trois ou quatre éleveurs par *bag* en ont la charge, en décembre de chaque année. Dans le même temps, la mise en place d'un système d'identification obligatoire et contrôlé permettrait de n'oublier aucun mâle lors du dépistage, et de déterminer plus précisément le nombre de doses de vaccin à distribuer dans chaque *aimag*, de manière à avoir un meilleur taux de couverture vaccinal.

Pour être efficace, il faudrait que le système de surveillance, mis en place dans le cadre d'un programme national de lutte contre la brucellose, soit entièrement piloté par les services vétérinaires centraux, et non par les différentes autorités locales, comme c'est le cas actuellement. Les Services Vétérinaires Nationaux doivent donc définir clairement les stratégies de surveillance de la maladie, et établir des procédures, des obligations, des contrôles et des sanctions, qui seront les mêmes sur l'ensemble du territoire. Ensuite, il est nécessaire d'en informer correctement tous les acteurs. En effet, les objectifs de cette surveillance ainsi que les méthodes employées ne sont pas clairs pour tout le monde et les différents niveaux (national, d'*aimag*, ou encore de *sum*) ne sont pas toujours d'accord sur ce sujet, ce qui mène parfois à de graves incohérences. Quant aux acteurs de terrain, ils n'ont pour la plupart aucune compréhension d'ensemble de la chose.

La mise en place de formations sur les réseaux d'épidémiosurveillance, sur le modèle de celle qui a été donnée en Arkhangai, permettrait d'impliquer les acteurs de terrain dans les stratégies de lutte et de les amener par la suite à proposer eux-mêmes des améliorations.

La réalisation des tests Rose Bengale au niveau des *sums* pourrait être appliquée à l'échelle nationale. Cela nécessiterait d'acheter des kits terrain peu coûteux à distribuer dans tous les *sums* de Mongolie, et de s'assurer d'une formation préliminaire approfondie des vétérinaires de terrain sur la technique de réalisation du test. On pourrait imaginer faire une première année d'entraînement, où les tests seraient faits en doubles par les vétérinaires de *sum* et par les laboratoires d'*aimag*, qui seraient là pour assurer une formation continue aux premiers.

La répartition du budget alloué à l'épidémiosurveillance de la brucellose serait également à revoir. Il semble par exemple nécessaire de fixer un salaire minimum pour les vétérinaires réalisant les prises de sang, et ceci afin d'augmenter leur motivation. En effet, le montant de ces honoraires est décidé au niveau de l'*aimag* et de gros écarts de tarifs apparaissent entre les différents *aimags*, avec un minimum pour l'Arkhangai.

Des fonds doivent aussi être débloqués pour renforcer les formations. En effet, au niveau de l'université vétérinaire d'Ulaanbaatar, il serait bon de redéfinir les objectifs pédagogiques; et pour tous les vétérinaires praticiens mongols, des mises à niveau et des perfectionnements seraient profitables. Il paraît aussi indispensable de systématiser les formations dispensées aux éleveurs sur les moyens de lutte possibles, en tenant compte des principaux facteurs de risque identifiés.

Il est important de réorganiser le flux des données afin que tous les acteurs y aient accès et que le déroulement de la prophylaxie soit suivi jusqu'au bout. En effet, la redescende des données s'arrête souvent aux vétérinaires de terrain, et les éleveurs ne sont que rarement impliqués dans la lutte, par manque de connaissances et de communication. Le meilleur outil pour parvenir à cela est d'éditer périodiquement un bulletin d'information sanitaire dans lequel les résultats de la surveillance sont indiqués (par *aimag*, puis par *sum*), afin de permettre à chacun de se situer par rapport aux autres et de se motiver. La mise en forme d'un tel bulletin est effectivement prévue dans le cadre du projet AVSF, par l'intermédiaire de la Fédération des Groupements de Défense Sanitaire de l'Arkhangai.

La mise en place d'un système d'accréditation des laboratoires vétérinaires permettrait d'éviter les insuffisances qui existent parfois, que ce soit au niveau du personnel ou du matériel. Cela permettrait également d'avoir des laboratoires respectant les normes internationales, et dont les résultats pourraient donc être reconnus internationalement.

Enfin, une collaboration entre les différents ministères permettrait de replacer cette surveillance dans le cadre de la mise en place de circuits de commercialisation. En effet, aucune législation n'existe actuellement quant à la salubrité des denrées animales pouvant être vendues. Une meilleure gestion des circuits de commercialisation permettrait de rendre obligatoire la présentation d'un certificat de statut indemne de brucellose pour toute vente de denrées animales, et obligerait ainsi les éleveurs à se soumettre aux contraintes de la prophylaxie.

	Améliorations apportées ou prévues sur la zone du projet	Améliorations envisageables à l'échelle nationale
Motivation des vétérinaires	Formations sur l'épidémiosurveillance et sur les maladies infectieuses. Implication dans la lutte.	Prévoir un budget pour améliorer la formation initiale et continue des vétérinaires, notamment sur l'épidémiosurveillance. Augmenter la rémunération des vétérinaires pour la collecte des prises de sang. Améliorer la communication pour les tenir informer des nouvelles stratégies nationales.
Motivation des éleveurs	Formation/Sensibilisation données par les vétérinaires de <i>bag</i> sur la brucellose et autres maladies animales.	Systématiser le système de formations données aux éleveurs par les vétérinaires de <i>bag</i> , en prenant soin de former ces vétérinaires aux techniques pédagogiques de base. Réglementer la vente de denrées animales, que ce soit à l'intérieur ou à l'extérieur du pays (certificats de salubrité).
Organisation des campagnes de prophylaxie	Création des Comités de santé animale pour aider à l'organisation.	Créer des organisations et des réunions rassemblant les différents acteurs afin d'établir un dialogue. Améliorer le système de recensement du bétail. Mettre en place un système de surveillance uniforme dans tout le pays, piloté par les Services Vétérinaires Nationaux.
Collecte des prélèvements	Moyens de transport. Techniques de réalisation des prises de sang. Matériel nécessaire pour les prises de sang.	Améliorer la formation des vétérinaires. Organiser la distribution de matériel performant et en quantité suffisante.
Dépistage sérologique de la brucellose	Tests Rose Bengale réalisés par les vétérinaires de <i>sums</i> préformés. Equipement des laboratoires de <i>sums</i> .	Elargir ce système à tout le pays, en organisant des formations plus solides sur la technique du test Rose Bengale, et en distribuant dans tous les <i>sums</i> du matériel adapté. Mettre en place un système d'accréditation des laboratoires pour valider leurs résultats vis à vis des normes internationales (surtout pour les tests de confirmation).
Flux de données	Organisation d transport des sérums à confirmer. Restitution des résultats dans un bulletin d'information sanitaire de l'Arkhangāi.	Rédiger un bulletin d'information sanitaire au niveau national également, pour tenir informer les différents acteurs de la situation et des évolutions

Tableau 21 : Synthèse des recommandations pour l'amélioration du système de surveillance de la brucellose, au niveau local et national

3. Limites humaines et politiques

En dehors des améliorations énumérées ci-dessus, il semble que certaines barrières restent infranchissables pour l'établissement d'un réseau d'épidémiosurveillance parfait.

Tout d'abord, au cours des rencontres que nous avons pu faire de personnes haut-placées dans l'administration, nous avons été frappés par le peu de connaissances qu'elles avaient parfois dans leur domaine. En effet, souvent arrivées à leur poste par relations ou par manœuvre politique, elles n'ont aucune des qualifications requises pour leur travail. Ainsi, des décisions importantes peuvent être prises par des gens qui ne connaissent rien de la brucellose et encore moins de l'épidémiologie ; et la plupart des documents officiels rédigés sur les stratégies de surveillance sont complètement incompréhensibles. La corruption, également très présente en Mongolie, est aussi un frein à l'amélioration de la législation.

Plus largement, beaucoup de gens montrent un désintérêt complet pour les enjeux de leur métier, notamment à cause du manque de valorisation de leur profession. Ainsi, nous avons rencontré peu de vétérinaires réellement désireux de lutter contre la brucellose dans le simple but de préserver la santé humaine et de favoriser le commerce des denrées animales.

Il est également très difficile d'instaurer une réelle solidarité entre les gens et de les réunir afin qu'ils puissent mieux défendre leurs droits. Mis à part celles créées par AVSF en Arkhangaï, il n'existe aucune organisation d'éleveurs ou de vétérinaires, pour que chaque profession puisse exprimer ses opinions et défendre ses intérêts. Lorsque des réunions sont organisées, il est très difficile d'amener les gens à s'exprimer et à soumettre leurs idées. Les prises de décision à propos des politiques d'élevage restent ainsi complètement aux mains de l'Etat, sans qu'il n'y ait aucune intervention des personnes concernées.

Enfin, les mentalités sont encore très marquées par le long régime communiste qui a perduré en Mongolie jusque dans les années 1990. Ainsi, les éleveurs n'acceptent pas que l'Etat ne prenne plus en charge tous les frais incombés au maintien de la santé animale, et ils refusent de dépenser eux-mêmes de l'argent pour cela. En effet, les vétérinaires ne reçoivent de leur part que de maigres rémunérations, et aucune compensation financière pour les déplacements. Ils ont donc tendance à négliger les éleveurs les plus isolés et ayant peu de moyens, dont les troupeaux sont souvent mal suivis au niveau sanitaire.

CONCLUSION GENERALE

La Mongolie, à l'heure de la mondialisation et de la libéralisation de l'économie, n'est donc pas encore prête à entrer dans le réseau du commerce international des productions animales. En effet, cette étude a prouvé que le taux de prévalence de la brucellose y était très élevé, ce qui suffit en soi à interdire toute exportation de denrées animales ou d'origine animale.

De façon plus globale, le fonctionnement des réseaux de surveillance épidémiologique en santé animale est apparu très insuffisant pour permettre une reconnaissance internationale du statut sanitaire du cheptel mongol. Afin de rendre ces réseaux plus performants, une révision de la législation concernant l'élevage est d'abord indispensable et exige des gros efforts de communication de la part des différents niveaux. Les infrastructures des services de santé animale sont ensuite à améliorer, afin de faciliter les déplacements des vétérinaires et l'approvisionnement en médicaments. Dans le même temps, le statut des vétérinaires doit changer, de façon à valoriser leur travail et à les responsabiliser en matière de lutte pour l'amélioration de la santé animale et de la salubrité des denrées. Au travers du projet VSF-CICDA, les vétérinaires de terrain ont réalisé eux-mêmes les tests de dépistage de la brucellose, et se sont ainsi plus impliqués dans cette mission. Ce fonctionnement pourrait donc être généralisé à l'ensemble du pays, en prenant soin de former correctement les personnes impliquées et de mieux valoriser leur travail, par un salaire décent ou toute autre compensation. Du point de vue du secteur de l'économie, des efforts sont nécessaires également, afin de favoriser la commercialisation des produits mongols par rapport aux produits d'importation, d'augmenter les revenus des populations rurales, et de développer une économie locale indépendante de leur voisin russe.

Ainsi, le travail qu'il reste à faire pour intensifier la lutte contre la brucellose repose essentiellement sur l'établissement d'un dialogue entre les autorités gouvernementales et les acteurs de terrain, de manière à uniformiser les mesures de surveillance, à les adapter au contexte actuel, et à valoriser le travail des professionnels de santé.

Le projet de VSF-CICDA en Mongolie est un bon exemple d'action utile en matière de développement rural. En effet, un projet ne peut être profitable et durable que si il implique toutes les personnes concernées, et est soutenu par les autorités locales. Ainsi, l'objectif premier de l'aide au développement n'est pas l'apport de techniques et de matériel modernes, mais l'épanouissement des potentialités locales, dans le respect de la culture, et en s'adaptant au contexte historique et politique du pays. Travailler dans le domaine du développement nécessite donc avant tout des qualités humaines, ainsi que des connaissances en ethnologie et sociologie, le savoir technique n'étant finalement que secondaire.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Melle SIBILLE Clotilde, Marie, Aude
a été admis(e) sur concours en : 2001
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 2/11/2006
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

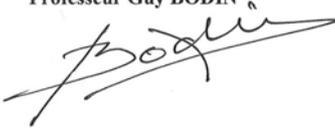
AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Guy BODIN Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
M elle SIBILLE Clotilde, Marie, Aude

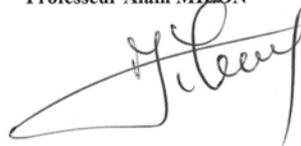
intitulée :

Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie)

**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Guy BODIN**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Henri DABERNAT**



**Vu le : 08/12/06
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-Francois SAUTEREAU**



Références bibliographiques

1. ACHA N.Pedro, SZYFRES Boris
Zoonoses and communicable diseases common to Man and Animals – Volume1: Bacterioses and Mycoses. 3ème édition. Office International des Epizooties. 2005
2. CAI LI, WIENER Gerald
The Yak, second edition
3. COSIVI Ottorino
What are we doing on brucellosis?
In: Animal and Food Related Public Health Risks (APH) - Department of Communicable Disease Surveillance and Response (CSR) - World Health Organization, Geneva
4. DUFOUR Barbara, HENDRIKX Pascal
La Surveillance Epidémiologique en Santé Animale
ENVA, CIRAD. 2005
5. EBRIGHT John R., ALTANTSETSEG Togoo, OYUNGEREL Ravdan
Emerging Infectious Diseases in Mongolia
Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 9, No. 12, December 2003
6. ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies contagieuses)
La Brucellose. Edition 2003.
7. GARIN-BASTUJI B.
Rapport de la mission WHO du 2 au 16 avril 1999 dans le cadre du projet ICP/OCD/010 : Epidemiological surveillance and control of communicable diseases of public health importance, including zoonoses
8. GAUTIER Anne, LE BAHERS Goulven
Diagnostic Agraire du bassin de la Ort Terkh-Souman (Province de l'Arkhangai, Mongolie)
Rapport de stage pour l'Institut National Agronomique Paris-Grignon, Juillet 2005
9. INSTITUT POURQUIER
Fiches techniques : Réalisation du test Rose Bengale et du Ring Test
10. LAVAL Géraud
Rapport de mission VSF-CICDA : Epidémiosurveillance des maladies animales dans la zone du projet AVSF-Mongolie en Arkhangai : réseaux existants et propositions d'améliorations août 2005
11. LAVAL Géraud
Formulaire de demande de subvention à la Commission Européenne pour le projet VSF-CICDA en Mongolie

12. LAVAL Géraud
Rapport Technique Intermédiaire du projet AVSF : Sécurisation du niveau de vie des éleveurs de l'Arkhangai, Mongolie
Octobre 2005
13. LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE René
Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail (Europe et Régions Chaudes)
Editions Tec et Doc, Editions Médicales Internationale. Londres, Paris, New York. 2003
14. LONELY PLANET
Mongolia, édition 2006
15. MAC MILLAN A.P.
Investigation of the performance of the Rose Bengale plate test in the diagnostic of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats
In: www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/WAR/war/W6437T/w6437t09.htm
16. MIKOLON Andrea B.
Epidemiology of Brucellosis on Mongolia
17. MIKOLON Andrea B.
Rapport de la mission WHO du 14 août au 30 octobre 1999 dans le cadre du projet ICP/OCD/010 : Epidemiological surveillance and control of communicable diseases of public health importance, including zoonoses
18. NATIONAL STATISTICAL OFFICE OF MONGOLIA
Mongolian Statistical Yearbook 2005. Ulaanbaatar, 2006
19. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES
Chapitre 2.3.1: Bovine Brucellosis
In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 13ème édition, 2004
20. POUILLOT Régis, GERBIER Guillaume, GARDNER Ian A.
« TAGS », a program for the evaluation of test accuracy in the absence of a gold standard
Preventive Veterinary Medicine 53 (2002), 67-81
21. ROTH Felix, ZINSSTAG Jakob, ORKHON Dontor *et al.*
Human Health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study
Bulletin of the WHO 2003, 81 (12)
22. ROTH Felix, ZINSSTAG Jakob
Economic analysis of the Brucellosis control in Mongolia
In: Improvement of human health through interventions in the veterinary sector
case of animal Brucellosis control in Mongolia - Février 2001 – Swiss Tropical Institute
23. SHEY-NJLA O., DAOUDA, NYA E. *Et al*
Enquête sérologique de la brucellose bovine au Cameroun
Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. Tome LVIII. n°3. 2005

24. THYS E., YAHAYA M.A., WALRAVENS K. *Et al*
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. Tome LVIII. n°4. 2005
25. TOMA B., DUFOUR B., SANAA M. *et al*
Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures
2^{ème} édition, Association pour l'étude de l'épidémiologie des maladies animales, Maisons-Alfort, 2001
26. United Nations Development Programme / Gouvernement de Mongolie
Human Development Report Mongolia 2003 – Urban-rural disparities in Mongolia
<http://www.UNDP.com>
27. WIKIPEDIA, L'encyclopédie libre
Mongolie
<http://fr.wikipedia.org/wiki/Mongolie>
28. INCONNU
Pour tout savoir ou presque sur le test statistique Kappa
www.kappa.chez-alice.fr

ANNEXES

ANNEXE 1

ACTIVITES MISES EN PLACE PAR LE PROJET VSF-CICDA AU PRINTEMPS 2006

*** Formations**

- Formation et sensibilisation des éleveurs sur la brucellose et autres maladies par les vétérinaires locaux préformés, et distribution de brochures
- Formation d'un vétérinaire par sum aux tests de dépistage de la brucellose
- Formation des professionnels de santé animale sur l'épidémiosurveillance
- Formation des vétérinaires de terrain à la réalisation et la lecture des tests de tuberculination chez les bovins
- Formations des vétérinaires sur la pharmacie et les méthodes de sensibilisation
- Formation de dix sept familles sur la fabrication artisanale du beurre
- Dans le cadre de la diversification des activités, formation de cinq familles sur la fabrication du feutre

*** Appui aux services vétérinaires**

- Concernant la santé animale :
 - Le matériel nécessaire a été fourni aux laboratoires de sum pour permettre la réalisation des tests Rose Bengale
 - Dix huit motos ont été distribuées pour les vétérinaires de terrain, ainsi que du matériel pour la vaccination et le déparasitage
 - Douze enclos à contention ont été fabriqués
 - Des documentations ont été fournies sur l'amélioration de l'épidémiosurveillance
- Pour ce qui est des productions animales :
 - Sept familles ont été formées à l'hygiène de la traite
 - Il existe un suivi longitudinal de 500 animaux à l'aide du logiciel Laser : données sanitaires et zootechniques

*** Organisation de producteurs**

- Quatre groupements de défense de santé animale ont été constitués, comptant environ cinquante éleveurs chacun, afin entre autres de pouvoir organiser le paiement des services (frais de déparasitage, transport des vétérinaires...)
- Des comités de santé animale ont été créés dans chaque sum, afin d'améliorer l'organisation du travail des vétérinaires
- Sept familles fournissent du lait à la fromagerie

*** Développement de l'économie locale**

- Deux fromageries ont été ouvertes à Ondor Ulaan et Khangai
- Il existe une activité de production de beurre sous la yourte
- Des ateliers de fabrication de feutre de yak ont été créés

ANNEXE 2

DEROULEMENT DE LA PROPHYLAXIE

Ondor Ulaan:

- 29/05: Prélèvements à Belkhi avec Shagdersuren → 4 BV, 38 OV, 32 CAP
Prélèvements à Bayangol par Batbayar seul → 27 OV, 23 CAP
- 30/05: Prélèvements à Hanui avec Batbayar → 4 BV, 51 OV, 32 CAP
- 12/06: Prélèvements à Belkhi avec Shagdersuren → 46 BV
- 13/06: Prélèvements à Belkhi avec Shagdersuren → 15 BV, 23 OV, 23 CAP
- 14/06: Prélèvements à Azarga avec Chulaa → 25 BV, 48 OV, 42 CAP
Prélèvements à Dongoï par Chymed seul: 2BV
- 15/06: Prélèvements à Azarga avec Chulaa → 11 BV, 22 OV, 13 CAP
- 16/06: Prélèvements à Dongoï avec Batbayar → 13 BV, 12 OV, 13 CAP
- 17/06: Prélèvements à Dongoï avec Batbayar → 23 BV, 26 OV, 21 CAP
- 18/06: Prélèvements à Dongoï avec Batbayar (remplace Chymed) → 27 BV, 24 OV, 13 CAP
- 19/06: Prélèvements à Dongoï avec Chymed → 3 BV, 83 OV
- 20/06: Prélèvements à Dongoï par Batbayar seul → 3 BV
- 26/06: Prélèvements à Azarga par Chymed seul → 19 BV, 19 CAP
Prélèvements à Hanui avec Batbayar → 24 BV, 23 OV, 16 CAP
- 27/06: Prélèvements à Hanui avec Batbayar → 20 BV
- 02/07: Prélèvements à Dongoï par Batbayar seul → 10 BV

Totaux par vétérinaire:

Shagdersuren: 65 BV, 61 OV, 55 CAP
Batbayar T: 48 BV, 101 OV, 71 CAP
Chulaa: 36 BV, 70 OV, 55 CAP
Batbayar H.: 76 BV, 38 OV, 34 AP
Chymed: 24 BV, 83 OV, 19 CAP

Tariat:

Travail en collaboration des différents vétérinaires: prélèvements réalisés avec plusieurs dans la voiture au cours de la semaine du 16 au 22 juillet. De plus, chaque vétérinaire a commencé de faire des prises de sang avant que l'on arrive et continue seul pendant que nous sommes dans d'autres bags. Très bonne organisation, supervisée par Tsetseg Bold, et vrai esprit d'équipe entre les différents vétérinaires.

Nous travaillerons deux journées au laboratoire pour faire les tests Rose Bengale, le 20/07 et le 23/07.

Les vétérinaires continueront à prélever la semaine suivante, et nous ferons encore une journée de laboratoire le 02/08 pour tester 100 petits ruminants.

Khangai:

25/07: Prélèvements à Ar.Bayasgalan avec Uranchimeg et Dolgormaa (16 BV), qui en a fait aussi seule avant et qui continuera ensuite seule, et à Noyon Khangai avec Dolgormaa (10 BV)

26/07: Prélèvements à Noyon Khangai avec Dolgormaa (20 BV)

27/07: Prélèvements à Terkh avec Oyunbileg (22 BV), qui a déjà fait 20 BV, 24 OV et 19 CAP avant

28/07: Tests Rose Bengale au laboratoire

29/07: Prélèvements à Chandmani par Battseren seul: 15 BV, 23 OV, 15 CAP

30/07: Prélèvements à Bayan Ulaan avec Battseren: 25 BV

31/07: Prélèvements à Gichgene avec Togtohbayar (12 BV), qui a déjà fait avant 7 BV, 10 OV, 4 CAP

01/08: Tests Rose Bengale au laboratoire

ANNEXE 3

Blood samples

Sum (code): _____

Bag (code): _____

Khot Ail (code): _____

Name of the herder (code): _____

Veterinarian who sampled: _____

Date: __ / __ / __

Total of bulls: _____ / Sampled: _____

Total of sheep males (rum): _____ / Sampled: _____

Total of goat males: _____ / Sampled: _____

	Tube number	Sp	Age	Description	RBT
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

ANNEXE 4

Blood samples (monitoring herd)

Sum (code): _____

Bag (code): _____

Khot Ail (code): _____

Name of the herder (code): _____

Date: __ / __ / __

	Ear tag number	Sex	Age	Vaccine (date)	Rose Bengale Test	Complement Fixation Test	Agglutination Test
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							

ANNEXE 6

Confirmatory Tests

Sum (code): _____
Bag (code): _____
Khot Ail (code): _____
Name of the herder (code): _____
Identification of animal: _____
Tube Number: _____
Date of sampling: __ / __ / __

Date of Rose Bengale Test: __ / __ / __ Result:

Date of CFT: __ / __ / __ Result: + - 0

Date of SAT: __ / __ / __ Result: + - 0

Confirmatory Tests

Sum (code): _____
Bag (code): _____
Khot Ail (code): _____
Name of the herder (code): _____
Identification of animal: _____
Tube Number: _____
Date of sampling: __ / __ / __

Date of Rose Bengale Test: __ / __ / __ Result:

Date of CFT: __ / __ / __ Result: + - 0

Date of SAT: __ / __ / __ Result: + - 0

ANNEXE 7

QUESTIONNAIRE

Date of interview:

Sum:

Bag:

Khot Ail:

Name of the herder:

LIVESTOCK

	Total	Adult breeding males	Adult castrates males	Females	Young (<7months)
Sheep					
Goats					
Yaks					

* How many neighbour herds mix with your animals
- while grazing?
- while drinking?
Are they always the same?

BREEDING

* Free / supervised (males live with females?)

* Use of foreign males (always the same)?

* Loan of males (always to the same herder)?

* Problems of infertility in males? Orchitis? Lumpy testicles?

* Moving of males?

DROPPING (BIRTHING)

- * How do you dispose of aborted foetus and placentas? Do you manipulate them?

- * Do you intervene in droppings?

- * How do you cut the umbilical cord?

- * Do you use protections in these cases (gloves...)?

- * Do you isolate the females during dropping? And the new born?

- * Do you disinfect the place of dropping?

SELLING AND PURCHASING

- * Where do you sell your animals?

- * To whom:
 - Other herders in the same Bag/Sum?
 - Herders in other Sums/Aimags?
 - The slaughterhouse?
 - Nonherding individuals (for food)?

- * Where do you purchase them?

- * How do you choose them?

- * Do you exchange animals? With whom?

BRUCELLOSIS

- * Do you isolate animals suffering of brucellosis? Or do you slaughter them?

- * Do you keep young females born of infected mother?

- * Are your animals vaccinated against Brucellosis?

- * When was the last vaccination campaign?

- Which animals were vaccinated? (Only young? Females? Males?)

PREVENTION

- * Are some animals living in your ger (specially new born)?

- * Do you always boil the milk before drinking it or using it to make dairy products?

- * Do you sometimes eat raw meat or raw internal organs (liver)?

- * Who milk animals? With protection?

- * Who slaughter animals? In which conditions?

- * Do you handle dung?

OTHER ANIMALS

- * Do you know dogs and horses are susceptible to brucellosis?

- * Do your dogs eat placentas and aborted foetus? Or does he play with them?

- * Did you notice horses with open draining sores on their withers or on the top of their head?

- * Do you know tuberculosis can be transmitted to dogs, sheep and goat?

ANNEXE 8

Tests Rose Bengale sur les mâles de Ondor Ulaan

		Nombre de prélèvements	RBT français	RBT mongol	Tests de confirmation	Prévalence
Bayangol	Taureaux	0				
	Béliers	27	0	0		0%
	Boucs	23	0	0		0%
Hanui	Taureaux	48	6	5	6	12,50%
	Béliers	74	0	0		0%
	Boucs	48	0	0		0%
Belkhi	Taureaux	65	10	7	10	15,40%
	Béliers	61	0	0		0%
	Boucs	55	0	0		0%
Azarga	Taureaux	58	6	3	4	10,30%
	Béliers	153	0	0		0%
	Boucs	74	0	0		0%
Dongoï	Taureaux	78	14	9	13	16,70%
	Béliers	62	0	0		0%
	Boucs	47	0	0		0%
Total	Taureaux	249	36	24	35	14%
	Béliers	377	0	0		0%
	Boucs	247	0	0		0%

Tests Rose Bengale sur les mâles de Tariat

		Nombre de prélèvements	RBT français	RBT mongol	Tests de confirmation	Prévalence
Tsagaan Nuur	Taureaux	63	4	4	4	6,35%
	Béliers	26	0	0	0	0,00%
	Boucs	15	0	0	0	0,00%
Terkh	Taureaux	43	10	5	10	23,26%
	Béliers	29	0	0	0	0,00%
	Boucs	21	0	0	0	0,00%
Khorgo et Shanaat et Gichgene?	Taureaux	46	5	4	5	10,87%
	Béliers	14	0	0	0	0,00%
	Boucs	20	0	0	0	0,00%
Booroljuut	Taureaux	21	1	1	1	4,76%
	Béliers	78	1	0	1	1,28%
	Boucs	21	0	0	0	0,00%
Moron	Taureaux	43	1	1	1	2,33%
	Béliers	0	0	0	0	0,00%
	Boucs	0	0	0	0	0,00%
Altaad	Taureaux	36	0	0	0	0,00%
	Béliers	0	0	0	0	0,00%
	Boucs	0	0	0	0	0,00%
Total	Taureaux	252	21	15	21	8,7 %
	Béliers	147	1	0	1	0,68%
	Boucs	77	0	0	0	0,00%

Tests Rose Bengale sur les mâles de Khangai

		Nombre de prélèvements	RBT français	RBT mongol	Tests de confirmation	Prévalence
Ar.Bayasgalan	Taureaux	32	7	8	7	21,88%
	Béliers	22	0	1	0	0%
	Boucs	14	0	0	0	0%
Noyon Khangai	Taureaux	30	8	10	8	26,67%
	Béliers	0	0	0	0	0%
	Boucs	0	0	0	0	0%
Terkh	Taureaux	42	14	22	13	30,95%
	Béliers	24	0	0	0	0%
	Boucs	19	0	0	0	0%
Chandmani	Taureaux	15	2	4	2	13,33%
	Béliers	23	0	1	0	0%
	Boucs	15	0	0	0	0%
Gichgene	Taureaux	17	1	1	1	5,88%
	Béliers	10	0	0	0	0%
	Boucs	4	0	0	0	0%
Bayan Ulaan	Taureaux	25	2	1	2	8,00%
	Béliers	0	0	0	0	0%
	Boucs	0	0	0	0	0%
Total	Taureaux	161	33	46	32	21%
	Béliers	79	0	2	0	0%
	Boucs	53	0	0	0	0%

ANNEXE 9

Résultats des Ring Tests

- Sur les vaches donnant à la laiterie en mai :

Bag	Khot Ail	Eleveur	Résultat	Note	Confirmation
Belkh	Nergii	Jargal	-		
	Nergii	Bolertuga	-		
	Nergii	Hurantsatsral	D		
	Nergii	Olgongerel	D		
	Nergii	Delgermaa	-		
	Nergii	Renchmaa	-		
	Nergii	Saikhnaa	-		
	Ariunbold	Ouyarbayar	-		
	Ariunbold	Chimedtsey	-		
	Bademjunaï	3 familles	+	colostrum	
?	Dulmaa	+	colostrum		
Belkh	Nergii	Olgongerel	+		
	Nergii	Hurantsatsral	D	colostrum	
	Bademjunaï	Balgalmaa	-		
	Bademjunaï	Soyolerdene	+	Les 3 taureaux du khot ail sont - au RBT	RBT sur les 6 vaches: 1 +
	Bademjunaï	Enkhtuya	-		
	?	Dulmaa	D	colostrum	

- Sur vaches autour du centre sum :

Bag	Khot Ail	Eleveur	Résultat	Note	Confirmation
Bayangol		Lkhagvajav	-		
		Ulziibat	-		
		Batdorj	-		
		Javangundev	-		
		Erdenebat	-		
		Tuvshinjargal	-		
		Mushbat	+		RBT sur les 12 vaches: 2 +
		Delgerdalai	-		
		Purev	-		
		Tseveddorj	-		

ANNEXE 10

TAGS: evaluation of Tests in the Absence of a Gold Standard

1: Enter the number of test(s) to be evaluated

2: Enter the number of tested population(s) with an unknown infection status

3: Enter the number and the category of the reference population(s) tested

Number of parameters to be evaluated Degree of freedom : 6

4: Enter your results

Population with unknown infection status #1:

Enter the number of animals with a test #1= 0; test #2= 0 result: 0 0 =

Enter the number of animals with a test #1= 1; test #2= 0 result: 1 0 =

Enter the number of animals with a test #1= 0; test #2= 1 result: 0 1 =

Enter the number of animals with a test #1= 1; test #2= 1 result: 1 1 =

Population with unknown infection status #2:

Enter the number of animals with a test #1= 0; test #2= 0 result: 0 0 =

Enter the number of animals with a test #1= 1; test #2= 0 result: 1 0 =

Enter the number of animals with a test #1= 0; test #2= 1 result: 0 1 =

Enter the number of animals with a test #1= 1; test #2= 1 result: 1 1 =

5: (Facultative) Enter your best guesses (all values within] 0-1 [)

Disease prevalence in the population with unknown infection status #1 :

Disease prevalence in the population with unknown infection status #2 :

test #1: Specificity : Sensitivity :

test #2: Specificity : Sensitivity :

6: Submit ! (your results will be given through a new window)

ANNEXE 11

Results from Rweb

You are using Rweb1.03 on the server at bayes.math.montana.edu

R : Copyright 2003, The R Foundation for Statistical Computing
Version 1.8.1 (2003-11-21), ISBN 3-900051-00-3

R is free software and comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY.
You are welcome to redistribute it under certain conditions.
Type 'license()' or 'licence()' for distribution details.

R is a collaborative project with many contributors.
Type 'contributors()' for more information and
'citation()' on how to cite R in publications.

Type 'demo()' for some demos, 'help()' for on-line help, or
'help.start()' for a HTML browser interface to help.
Type 'q()' to quit R.

```
Rweb:> postscript(file= "/tmp/Rout.4405.%03d.ps", onefile=FALSE)
Rweb:>
Rweb:> options(echo=F)
```

TAGS V.2.0 results, R.Pouillot, AFSSA, France, r.pouillot@afssa.fr

DATA SUMMARY

2 Population(s); 2 Tests; 0 Reference Population(s)

d.d.l: 6 ; parameters: 6

	test1	test2	pop1	pop2	RefInd	RefInf
1	0	0	212	219	0	0
2	1	0	13	7	0	0
3	0	1	1	1	0	0
4	1	1	23	14	0	0

	pre1	pre2	Sp1	Sp2	Se1	Se2
Best Guess	0.2	0.2	0.95	0.95	0.8	0.8

EXPECTATION MAXIMISATION

\$Iterations

[1] 1000

\$LogLikelihood

[1] -223.8725

\$Estimations

	pre1	pre2	Sp1	Sp2	Se1	Se2
Est	0.1451	0.0874	1	0.9957	0.9967	0.6491

NEWTON-RAPHSON

\$Iterations

[1] 51

\$LogLikelihood

[1] -223.8725

\$Estimations

	pre1	pre2	Sp1	Sp2	Se1	Se2
Est	0.1450	0.0874	1	0.9957	0.9968	0.6491
CIinf	0.1070	0.0583	NaN	0.9831	0.0312	0.5183
CIsup	0.1937	0.1290	NaN	0.9989	1.0000	0.7608

WARNING 1: test results are assumed to be independent conditional on infection or disease status

WARNING 2: tests are supposed to have constant sensitivity and specificity in all populations

Expected Results (NR) and Goodness-of-fit test

\$Expected

	test1	test2	pop1	pop2	RefInd	RefInf	ExpPop1	ExpPop2	ExpRefInd	ExpRefInf
1	0	0	212	219	0	0	212.00	219.00	0	0
2	1	0	13	7	0	0	12.63	7.37	0	0
3	0	1	1	1	0	0	1.00	1.00	0	0
4	1	1	23	14	0	0	23.37	13.63	0	0

\$Test

[1] "NA"

\$Commentary

[1] "The number of parameters = ddl: no goodness-of-fit test possible"

Residuals correlations between test

\$ResCor

[1] "The number of parameters = df: no meaningful residuals"

Rweb:>



Ce document a été réalisé avec l'aide de l'Union Européenne.

Le contenu de ce document relève de la seule responsabilité de son auteur et ne peut en aucun cas être considéré comme reflétant la position de l'Union Européenne.

Toulouse, 2006

NOM : SIBILLE

PRENOM : Clotilde

TITRE : Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie)

RESUME :

La brucellose, zoonose déclarée majeure par l'Office International des Epizooties, peut entraîner de graves conséquences sur la santé humaine et l'économie d'un pays. Apparue en Mongolie dans les années 1940, cette maladie est encore loin d'y être contrôlée et son importance semble largement sous estimée. L'auteur s'attache ici à déterminer sa prévalence dans trois départements de la province de l'Arkhangai, et à valider les techniques de diagnostic qui y sont utilisées.

Pour cela, tous les mâles reproducteurs des espèces bovine, ovine et caprine de cette zone sont soumis à un test de dépistage par épreuve à l'antigène tamponné. Il apparaît alors que le taux de prévalence chez les bovins est proche de 15%, tandis qu'il est quasiment nulle chez les petits ruminants. Ces résultats sont par la suite comparés avec ceux obtenus par des vétérinaires de terrain nouvellement formés aux techniques de diagnostic. Le test Rose Bengale pratiqué par les vétérinaires mongols se révèle moins sensible que le test standard, et plusieurs hypothèses sont émises pour expliquer cet écart.

Une analyse critique de l'ensemble du système d'épidémiosurveillance de la brucellose met finalement en avant les insuffisances existant aux différents niveaux, et propose des solutions adaptées au contexte.

MOTS-CLES : BRUCELLOSE – MONGOLIE – EPREUVE A L'ANTIGENE TAMPONNE– ROSE BENGAL - PREVALENCE – RESEAU D'EPIDEMIOSURVEILLANCE – YAK

ENGLISH TITLE : Contribution to epidemiological survey on brucellosis in Arkhangai district (Mongolia)

ABSTRACT :

Brucellosis is a zoonosis considered as a priority by the International Office for Epizootie and it can have serious consequences on human health and economy when existing in a country. It appeared in Mongolia in the 1940's, and this disease is far from control. Its seriousness is deeply under evaluated. The author try here to specify the prevalence in ththree regions of the Arkhangai province, and to validate the dianostic techniques used there.

For this purpose, all breeding males in bovine, ovine and caprine species are tested for a screening with the Rose Bengal Test. The prevalence rate calculated in bovines is also near 15 %, as it is almost zero in small ruminants. These results are then compared with the results obtained by the field veterinarians, recently trained for the diagnostic techniques. The Rose Bengal test, when done by mongolian veterinarians, is less sensitive than the standardized test. Some hypothesis are done to explain this difference.

Finally, a critical analysis of the global monitoring system for brucellosis shows the failings on the different levels and propose some solutions, according to the mongolian context.

KEY WORDS : BRUCELLOSIS – MONGOLIA – ROSE BENGAL TEST – PREVALENCE – EPIDEMIOSURVEILLANCE NETWORK - YAK