

QUALITE DES ANALYSES BIOLOGIQUES ET ADAPTATION DE LEUR EMPLOI A LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DE LA BRUCELLOSE BOVINE*

B. GARIN-BASTUJ^[1]

RESUME : La prophylaxie réglementée de la brucellose bovine a été primitivement entreprise selon des procédures et avec des techniques qui, pour certaines d'entre elles, ne répondent plus à leurs objectifs dans la situation épidémiologique actuelle de la maladie en France. L'auteur analyse les qualités de chacune des méthodes de diagnostic utilisées en France à partir de données épidémiologiques issues de travaux français et étrangers et tire les conséquences en matière de stratégie d'utilisation de ces épreuves en prophylaxie sanitaire, dans le cadre des échanges et mouvements d'animaux et pour l'assainissement des foyers.

SUMMARY : The official measures once taken against bovine brucellosis have been set up following rules and techniques, which, for some of them, are now too far from their aims when the epidemiological situation of the disease in France is considered. The author analyses the qualities of every diagnostic methods used in France with the help of epidemiological data coming from French and foreign works. He then points out the consequences, in the fields of strategic usefulness of these assays when eradicating the disease, for the trade of animals and for the extinction of the outbreaks.

* * *

La brucellose est une zoonose d'origine bactérienne, de répartition mondiale. Les espèces les plus touchées sont les ruminants et essentiellement en France, les bovins, les ovins et les caprins. Les *Brucella*, agents responsables de la maladie sont des bactéries à tropisme intracellulaire (système lymphatique) qui induisent chez l'hôte infecté une réponse immunitaire à la fois humorale et cellulaire. La contagiosité entre animaux au sein d'un élevage infecté est variable. Elle est bien entendu liée à la virulence de la souche et à la résistance de l'individu cible, ces deux facteurs déterminant l'expression de la maladie. Toutes les formes existent en effet entre la brucellose suraiguë avec avortement et la maladie inapparente en passant par diverses formes chroniques plus ou moins exprimées. La résistance de l'individu est liée à l'espèce cible, l'âge (stade foetal et brucellose congénitale, femelles impubères réceptives mais insensibles, animaux pubères sensibles) et le stade physiologique (la gestation est la période de sensibilité maximale). L'excrétion est en conséquence également très variable. Généralement importante lors d'avortement, elle est plus ou moins intense et régulière dans les formes subaiguës à chroniques, notamment dans le lait, voire absente dans certains cas.

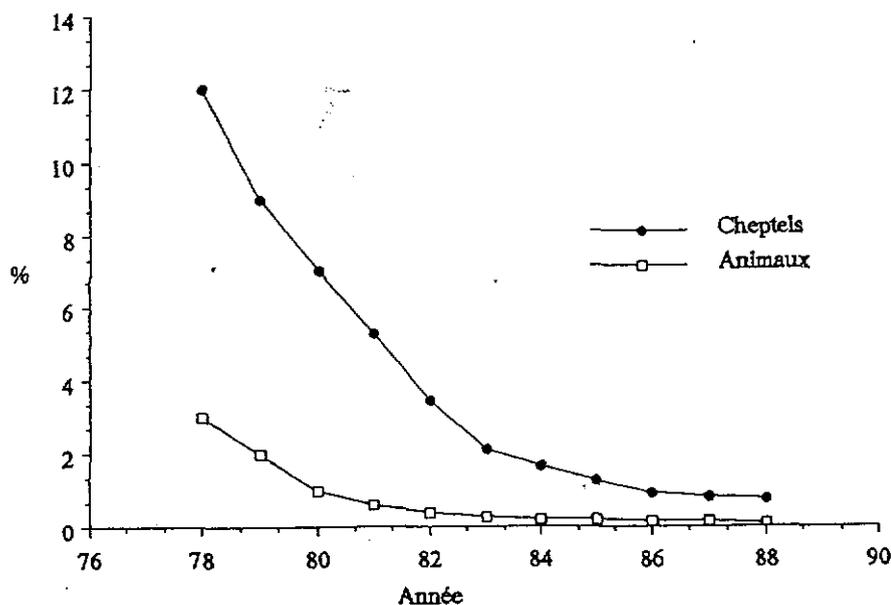
* Texte de l'exposé présenté le 7 décembre 1989.

[1] Laboratoire national de référence des brucelloses animales, CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, B.P. 67, 94703 Maisons-Alfort Cedex, France.

Toutes les formes peuvent exister soit sur différents individus soit sur un même individu à différentes époques de sa vie économique. La structure de l'élevage influe aussi de manière importante sur l'évolution de l'infection dans le foyer (confinement entre animaux de même âge, d'âge différent, mouvements d'animaux, élevage laitier, à viande ou mixte, mélange d'espèces animales sensibles...).

La prophylaxie réglementée de la brucellose bovine existe en France depuis plus de 20 ans. Après une période de vaccination généralisée des jeunes animaux avec contrôle sérologique des adultes (prophylaxie médico-sanitaire), la lutte contre la maladie repose aujourd'hui pour la majorité du territoire national, du fait du faible taux résiduel de prévalence, sur une prophylaxie sanitaire stricte impliquant un contrôle sérologique régulier des animaux et l'assainissement des troupeaux par abattage des animaux infectés. Des succès considérables ont été obtenus dans les 15 années qui ont suivi la mise en place de cette prophylaxie (figure 1).

Figure 1 : Evolution de la prévalence annuelle de l'infection brucellique en France de 1978 à 1988 (Sources : 78-81 FNGDS, 81-88 DGA).



Depuis 1984-1985 cependant, on assiste à un infléchissement de la courbe du fait notamment de la suppression de la couverture vaccinale. Si le nombre de départements à faible taux de prévalence est en augmentation constante ces dernières années, certains d'entre eux demeurent assez fortement infectés et représentent un risque permanent pour le reste du territoire, constituant un réservoir de la maladie (tableau I).

Cette relative disparité entre régions implique nécessairement des attitudes différentes en matière de prophylaxie qui soient adaptées à la fois au niveau de prévalence local et aux structures d'élevage propres à la région concernée.

La phase actuelle et récente d'éradication de la brucellose bovine en France voit son succès dépendre en grande partie de la fiabilité des méthodes de diagnostic et de leur emploi raisonné. Les qualités requises pour les épreuves de diagnostic, en brucellose animale notamment, sont d'être applicables à l'individu vivant, d'être peu coûteuses, pratiques, reproductibles et fiables. Il est également intéressant de disposer de méthodes simples permettant de détecter la présence de l'infection au niveau du troupeau.

Tableau I : Répartition des départements français en fonction de leur taux annuel d'infection des cheptels (1978-1988) [2].

Taux annuel d'infection des cheptels	Année						
	78	83	84	85	86	87	88
Nombre de départements							
T ≤ 1 %	6	24	40	53	58	64	69
1 % < T ≤ 3 %	8	46	39	29	33	27	22
3 % < T ≤ 5 %	12	16	9	7	2	2	3
5 % < T ≤ 10 %	28	6	5	5	2	2	2
T > 10 %	37	1	1	0	1	1	0
France	12	2,14	1,65	1,28	0,93	0,84	0,78

VARIABILITE ATTENDUE
DANS LES REPONSES AUX METHODES DE DIAGNOSTIC [1, 4]

Les méthodes de diagnostic retenues en brucellose bovine sont les suivantes : épreuve de l'anneau (ou ring-test, RT) réalisée sur lait, de mélange le plus souvent, épreuves à l'antigène tamponné (ou Rose-Bengale, EAT), de fixation du complément (FC) ou de séroagglutination lente de Wright (SAW), ces trois dernières épreuves étant réalisées sur le sérum. Il est également possible d'effectuer une épreuve cutanée allergique à la brucelline-INRA, celle-ci mettant en évidence les réactions d'hypersensibilité de type retardé. Le tableau II montre que les effecteurs immunologiques et les antigènes impliqués varient notablement d'une épreuve à l'autre.

Par ailleurs, la réponse immunitaire propre de l'animal infecté est extrêmement variable d'un individu à l'autre ; cette variabilité peut être liée à divers facteurs comme l'intensité de l'infection, son stade évolutif et sa localisation dans l'organisme (générale, limitée à la mamelle, à un ou plusieurs sites ganglionnaires, ...), d'où des divergences prévisibles entre les réponses obtenues dans les différentes épreuves de diagnostic, que celles-ci reposent sur la sérologie, l'allergie ou la bactériologie [10].

Le tableau III donne l'éventail de réponses classiquement rencontrées dans le diagnostic de la brucellose bovine. Le cas 1 est le plus classique dans un foyer de brucellose aiguë. Les cas suivants sont plus rares mais existent dans les foyers. Ils sont liés le plus souvent à une faible contamination, à une souche faiblement virulente ou encore à une résistance plus ou moins forte de l'hôte avec localisation de l'infection restreinte à la mamelle (cas 3 et 7) ou à un groupe de ganglions (cas 2 et 6). Les cas 4 et 5 sont banals et illustrent les divergences fréquemment rencontrées (20 à 25 % des animaux infectés) entre sérologie et allergie.

Tableau II : Effecteurs immunologiques et antigènes impliqués dans les épreuves de diagnostic, dans l'infection et la vaccination en Brucellose [4].

Méthode	Effecteurs immunologiques					Antigènes
	Immunoglobulines				Lymphocytes T sensibilisés	
	G1	G2	M	A		
R.T.	+	+	+	+		LPS
E.A.T.	+	-	+	-		LPS
S.A.W.	-	+	+	-		LPS
F.C.	+	-	+	-		LPS, Bru., Pg
E.C.A. à la Brucelline	-	-	-	-	+	Bru., Pg
Infection	++++	++	++	+	+	LPS, Bru., Pg
Vaccination	++	++++	++++	+	+	LPS, Bru., Pg

R.T. : ring-test ; E.A.T. : épreuve à l'antigène tamponné ; S.A.W. : séroagglutination lente ; LPS : lipopolysaccharide ; Bru : brucelline ; Pg : peptidoglycane.

Tableau III : Quelques cas significatifs de réponse aux épreuves de diagnostic individuel*[10].

Epreuves	Cas n°						
	1	2	3	4	5	6	7
Sérologie (EAT, FC, SAW)	+	-	-	+	+	-	-
E.C.A. (brucelline)	+	-	-	+	-	+	+
R.T.	+	-	+	-	+	-	+
Culture (lait)	+	-	+	-	+	-	+
Culture (autopsie)		+					+
Infection	+	+	+	+	+	+	+

* Troupeau non vacciné ; E.A.C. : épreuve cutanée allergique.

QUALITE DES METHODES DE DIAGNOSTIC

LE DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE [1, 4, 10]

Celui-ci repose sur deux types de méthodes :

1. La bactérioscopie (coloration de Stamp sur calque d'organe)

On ne dispose pas de chiffres précis en ce qui concerne cette technique, mais l'expérience prouve qu'elle manque de sensibilité ; il n'est pas rare en effet d'observer des Stamp négatifs avec isolement de *Brucella*. Ceci s'explique tout à fait par le côté aléatoire des prélèvements choisis pour effectuer les calques. De plus, le nombre de germes nécessaires à l'observation de bactéries nettement colorées par le Stamp est de surcroît supérieur à celui requis pour l'isolement en culture (1 germe vivant suffit alors théoriquement). En second lieu, le manque de spécificité est bien connu, des images difficilement différenciables pouvant être observées lors de chlamydie ou de fièvre Q.

2. La mise en culture et l'isolement du germe

Cette technique facile à mettre en oeuvre et spécifique à 100 % souffre néanmoins de quelques défauts :

- absence d'excrétion toujours possible, des prélèvements sur le cadavre étant alors nécessaires,
- manque de sensibilité impliquant de multiplier les prélèvements et les ensemencements (tableau IV), la mise en évidence du germe nécessitant parfois un passage sur animal de laboratoire,
- problèmes de coût et d'organisation (zoonose).

Tableau IV : Liste cumulative des paires de ganglions lymphatiques permettant la détection de 100 % des animaux positifs en culture à l'autopsie [6].

Ganglions lymphatiques (paire)	Animaux détectés/ total animaux + (%)
Rétromammaires (Rétro.)	79,6
Rétro. + Préscapulaires (Pré.)	89,8
Rétro. + Pré. + Rétropharyngiens (Rétrop.)	93,9
Rétro. + Pré. + Rétrop. + Sousmaxillaires (Sousm.)	98
Rétro. + Pré. + Rétrop. + Sousm. + Iliques	100

Sensibilité des cultures (tous ganglions) = 72,6 %

Cependant, c'est la seule méthode qui permet un diagnostic de certitude, lorsqu'elle est positive. Elle devrait donc être mise en oeuvre le plus fréquemment possible. De meilleurs résultats sont attendus en terme de coût, de praticabilité et de sensibilité avec de nouvelles techniques de mise en évidence du germe ou de ses antigènes (fluorescence, ELISA, sondes nucléiques, ...).

LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE [1, 4, 10]

1. EAT, FC et SAW

Celui-ci repose pour les examens sur sérum sur trois types d'épreuve (EAT, SAW, FC).

Le tableau V donne les résultats obtenus dans un travail canadien sur un millier d'animaux indemnes et montre une spécificité inférieure pour la SAW à celle observée avec les deux autres épreuves.

Tableau V : Spécificité des tests sérologiques utilisés en brucellose bovine (contrôle en troupeaux indemnes) [12].

Tests	Critères de positivité	Spécificité (%)		
		Vaccinés ^a	Non-vaccinés ^b	Tous ^c
S.A.W.	>60 UI/ml	98,8	99,5	99,2
E.A.T.	+	100	100	100
F.C.	≥ 1/5	100	100	100

a : 321 bovins de 15 troupeaux vaccinés jeunes ;
b : 730 bovins de 24 troupeaux non-vaccinés ; c : a + b

Ces chiffres sont à moduler car tirés d'une étude sur de relativement faibles effectifs et sont vraisemblablement légèrement supérieurs à la réalité. Quoiqu'il en soit, le manque de spécificité de la SAW est désormais bien connu, notamment dans les régions de faible prévalence, et il est dû soit à des phénomènes de réactions croisées soit à de fausses agglutinations EDTA-labiles. Le pourcentage réel de réactions non-spécifiques dans cette épreuve est difficile à estimer, mais il est certainement très supérieur à celui observé dans les deux autres épreuves qui, classiquement, ne donnent lieu à aucune réaction de ce type en région indemne et en l'absence d'antécédents de vaccination [1]. Le tableau VI donne les valeurs de la sensibilité des trois épreuves par rapport à l'isolement bactérien en troupeau non-vacciné.

Tableau VI : Sensibilité des tests sérologiques utilisés en brucellose bovine (contrôle sur 167 bovins positifs en culture issus de troupeaux non-vaccinés) [12].

Tests	Critères de positivité	Sensibilité (%)
S.A.W.	> 60 UI/ml	68,9
E.A.T.	+	74,9
F.C.	≥ 1/5	79,0
Tous tests combinés*		82

* Positif à l'un ou/et l'autre des tests.

L'ensemble des tests combinés ne détecte que 80 % environ des animaux ayant donné lieu à un isolement de *Brucella* et la SAW manque de sensibilité par rapport aux deux autres épreuves. Le seuil de positivité retenu pour cette épreuve influe bien évidemment sur l'estimation de la sensibilité, mais retenir un seuil plus élevé conduirait inévitablement à l'inclusion de nombreuses réactions non spécifiques. Enfin, ces chiffres sont à revoir légèrement à la hausse du fait du manque de sensibilité connu des techniques bactériologiques. Des sensibilités analogues ont été retrouvées par d'autres auteurs et le tableau VII illustre les divergences observées entre résultats sérologiques et bactériologiques.

Tableau VII : Relations entre FC, EAT et ELISA, et résultats des cultures [6].

Sérologie			Culture	
FC	EAT	ELISA*	Positive	Négative
< 4	-	0- 9	0	8
		10-25	4	4
< 4	+	0- 9		2
		10-25	5	3
		26-50	2	
		76-99	1	
4	+	26-50	1	1
		51-75	2	1
8	+	26-50	3	
		51-75	2	1
		76-99		1
16	+	51-75	4	
		76-99		1
		≥ 100	1	
32	+	26-50	1	
		51-75	1	
		76-99	5	
		≥ 100	3	
64	+	76-99	2	
		≥ 100	2	1
≥ 128	+	76-99	3	
		≥ 100	7	

* Résultats exprimés en unités.

Dans cette étude, l'EAT semble légèrement plus sensible que la FC et il apparaît clairement que les chances d'isolement bactérien augmentent avec le titre en anticorps. Les études menées au LCRV sur un millier de sérums (653 sérums négatifs/958 sérums) issus de troupeaux à forte probabilité d'infection donnent des résultats analogues en matière de sensibilité (tableaux VIII et IX). Les animaux ont été classés arbitrairement en infectés et indemnes selon les résultats aux trois tests sérologiques, en supposant leurs spécificités respectives égales à 100 %. Le calcul des valeurs prédictives négatives (VPRN) donne des résultats comparables, la SAW étant la moins performante des trois épreuves. Le calcul des mêmes valeurs mais tenant compte de la prévalence, illustre bien l'augmentation des VPRN avec la diminution de la prévalence [5], la proportion de faux négatifs dans la population des négatifs diminuant effectivement avec la prévalence. Les chiffres élevés obtenus doivent cependant être pris avec précaution. Si on les examine en terme de danger représenté par la non-détection de bovins infectés dans une région indemne, pour 8 animaux sur 100.000 testés "oubliés" par l'EAT, la SAW en "oublie" quant à elle 31 et la non-détection de quelques animaux suffit généralement à la réapparition de foyers et à l'extension de l'infection dans une région préalablement indemne.

De plus, les chiffres donnés dans cette étude sont calculés pour une spécificité de 100 %, ce qui n'est pas le cas, nous l'avons vu notamment pour la SAW.

Tableau VIII : Résultats comparés des trois épreuves sérologiques sur 958 sérums issus de troupeaux infectés (résultats LCRV).

	"infectés"	"indemnes"
	EAT + ou SAW + ou FC +	EAT - et SAW - et FC -
SAW +*	210	0
SAW -	95	653
EAT +	282	0
EAT -	23	653
FC +	229	0
FC-	76	653
Total	305	653

* SAW + : SAW > 80 UI/ml ou 30 UI/ml < SAW < 80 UI/ml et FC +
Toutes les épreuves sont supposées spécifiques à 100 %.

Tableau IX : Sensibilités et VPRN* comparées des trois épreuves sérologiques (calcul sur les résultats du tableau VIII).

	Sensibilité	VPRN ¹	VPRN ² Prév. 10%	VPRN ² Prév. 0,1%
FC	75,08	89,95	97,30	99,975
EAT	92,46	96,60 *	99,17	99,992
SAW	68,85	87,29	96,65	99,969

$$1 : VPRN = \frac{VN}{VN + FN}$$

$$\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.})$$

$$2 : VPRN = \frac{\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.})}{\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.}) + \text{prév.} \times (1 - \text{sens.})}$$

* Toutes les épreuves sont supposées spécifiques à 100 %.

Par ailleurs, à spécificité égale, la valeur prédictive d'un résultat positif diminue avec la prévalence et la proportion de faux positifs parmi les positifs augmente parallèlement [5]. La valeur de la SAW comme test de dépistage, compte tenu de sa moindre spécificité, diminue d'autant.

2. RT [7, 11, 13]

Le diagnostic sérologique de la brucellose bovine s'effectue sur le lait par l'épreuve de l'anneau (ou ring-test, RT). Cette épreuve peut être réalisée sur lait individuel (voire sur le lait de chaque quartier mammaire) ou sur le lait de mélange de l'ensemble des vaches en production d'une exploitation. Pour être positive, cette épreuve implique l'existence d'une infection mammaire par des *Brucella*. En effet, les anticorps présents dans le lait et d'origine sérique (IgG- dans le cas d'une infection systémique) ne peuvent généralement être à l'origine d'un RT positif. Ils peuvent en revanche accroître la réaction due aux anticorps d'origine mammaire (IgA et IgM).

Un RT individuel positif s'accompagne, dans 60 à 90 % des cas selon les auteurs, d'excrétion de *Brucella* dans le lait [7, 10].

Inversement, 90 % environ des animaux excréant dans le lait donnent un résultat positif au RT individuel (tableau X). Ce tableau montre des résultats assez comparables en sensibilité et spécificité entre le RT individuel et la CF. Il est à noter que les résultats présentés (tableaux X et XI) sont issus de travaux utilisant une technique de RT dont la limite inférieure de détection est respectivement 2 et 1,2 fois moindre que celle de la technique utilisée en France.

Tableau X : Sensibilité et spécificité comparées de la FC et du RT
(Troupeaux infectés comprenant certains animaux vaccinés jeunes) [7].

Epreuve	Sensibilité*	Spécificité**
FC \geq 10	91,2	58,4
FC \geq 40	64,8	81,4
RT \geq 10	89,8	57,5

* Sensibilité = nombre de sérums positifs parmi les "culture +"/nombre d'animaux "culture +"

** Spécificité = nombre de sérums négatifs parmi les "culture -"/nombre d'animaux "culture -"

Les problèmes posés par le RT sont aussi liés à son utilisation en mélange. La dilution éprouvée et donc la taille du troupeau influe alors notablement sur la sensibilité de l'épreuve (tableau XI). Ceci explique l'intérêt d'effectuer le RT sur des effectifs contenant au plus 80-100 vaches en production et de répéter mensuellement l'épreuve, ce qui augmente alors nettement sa sensibilité. Les chiffres relativement faibles obtenus pour la spécificité du RT sont liés d'une part au manque de sensibilité de la bactériologie et d'autre part à l'existence d'une mammite. Là encore ce type de problème peut être pallié par la répétition mensuelle de l'épreuve (spéc. = 95 % si le RT est positif 3 mois de suite) et par un contrôle sérologique de l'ensemble du troupeau. Enfin, si quelques animaux peuvent toujours échapper (volontairement ou non) au contrôle sérologique dans un troupeau, il est difficile d'exclure un ou plusieurs animaux en production d'un contrôle sur lait de mélange.

Figure 2 : Probabilité de détection de la brucellose dans des troupeaux de taille variable où la prévalence de l'infection est de 1 % ou de 0,5 % avec un système de surveillance fondé sur l'ECA à la Brucelline (sens. = 70 %) [8].

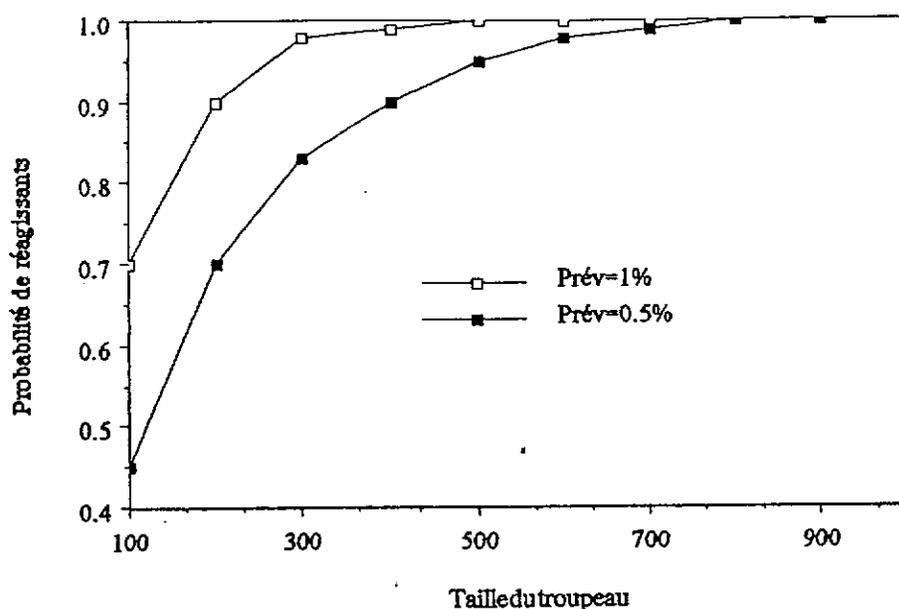


Tableau XII : Comparaison des résultats sérologiques et allergiques chez des animaux issus de troupeaux infectés [3].

		Résultats sérologiques		
		+	-	
E.C.A. à la Brucelline	+	185 (51%)	102 (28,5%)	289 (79,5%)
	-	74 (20,5%)	-	74 (20,5%)
		259 (71,5%)	102 (28,5%)	361

ADAPTATION DE L'EMPLOI DES EPREUVES DE DIAGNOSTIC A LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE

La situation épidémiologique de la brucellose bovine a, nous l'avons vu précédemment, considérablement évolué ces dernières années. La majeure partie du territoire a désormais atteint un niveau de prévalence très faible, ce qui permet raisonnablement d'envisager l'éradication à court terme, malgré ça et là, une persistance insidieuse de brucellose latente avec risque non négligeable de résurgence. La subsistance de quelques départements à taux d'infection notable doit également être prise en compte, notamment pour le danger qu'ils représentent en termes épidémiologiques pour le reste du pays.

Ceci implique un renforcement de la surveillance et en ce qui concerne les épreuves de diagnostic de les utiliser au mieux pour à la fois mieux et plus rapidement détecter et assainir les foyers et apporter davantage de garanties aux échanges d'animaux. Le tableau XIII résume les qualités de chacune des méthodes classiquement utilisées pour le diagnostic de la brucellose bovine.

Avec la baisse de la prévalence, la VPRP des épreuves sérologiques diminue et il apparaît clairement en premier lieu que, quelle que soit l'utilisation qui en est faite, la SAW ne répond plus aux exigences d'un programme visant l'éradication à court terme. Son manque de sensibilité interdit son usage dans de telles conditions tant en dépistage qu'en contrôle d'achat ou dans les opérations d'assainissement. En outre, sa faible spécificité induit inévitablement une augmentation des problèmes liés aux résultats faussement positifs en zone indemne.

La bonne spécificité, doublée d'un faible coût d'une bonne "praticabilité", de l'EAT et du RT mensuel en font, en revanche, les méthodes de choix pour le dépistage en prophylaxie sanitaire. Dans les situations épidémiologiquement complexes, il est toujours préférable, en outre, de contrôler d'éventuels résultats positifs en EAT par des FC complémentaires et en RT par un suivi sérologique annuel des génisses. Il est en corollaire bien évidemment indispensable pour donner toute son efficacité au laboratoire que les troupeaux soient rigoureusement contrôlés avec identification pérenne de tous les animaux, contrôle strict de tous les mouvements de bovins et mise en place d'un contrôle analogue sur toutes les espèces sensibles de l'exploitation. Dans le cadre des échanges d'animaux, la sévérité requise implique d'utiliser conjointement l'EAT et la FC compte tenu des résultats divergents qui peuvent apparaître entre ces deux épreuves.

Tableau XIII : Fiabilité des épreuves de diagnostic en brucellose bovine [4].

Méthode	Précocité	Persistance	Faux +	Faux -
R.T. (grand mélange)	+++	+++	Rares sur plusieurs RT consécutifs	Rares avec la technique actuelle
E.A.T.	+++	+++	Très rares	Rares
S.A.W.	+	+	Non rares	Non rares
F.C.	++	++	Très rares	Rares
Coloration de stamp	Variables selon le stade de l'infection		Existent : Fièvre Q Chlamydirose	Non rares
Identification bactériologique	Variables selon le stade de l'infection		Jamais	Non rares
E.C.A. à la Brucelline	+++	+++	Jamais sur troupeau non vacciné	Non rares

Cette utilisation conjointe augmente alors très nettement la probabilité de détection des animaux infectés. Tout résultat positif à l'une ou l'autre méthode doit entraîner la suspension de l'échange et conduire au déclenchement d'opérations d'assainissement".

Compte tenu des objectifs d'éradication il semble souhaitable que les opérations d'"assainissement" soient toutes réalisées selon la même logique, qu'elles aient été déclenchées par l'apparition d'un avortement (ou d'un signe clinique évocateur de brucellose) ou par un simple résultat sérologique (ou de plusieurs RT mensuels) positif (s). Il convient en premier d'isoler strictement les animaux suspects (sérologie ou RT individuel positif) ainsi que l'exploitation où ils sont détenus et d'effectuer ensuite un bilan épidémiologique complet comprenant notamment le maximum de données sur l'origine et les mouvements des animaux, le contexte épidémiologique, les épreuves de diagnostic réalisées antérieurement et d'éventuels antécédents vaccinaux. Outre des bilans sérologiques complets et réguliers (1 à 2 mois) de l'ensemble des animaux sensibles de l'exploitation suspecte, il convient de multiplier les épreuves complémentaires individuelles, compte tenu de la variabilité de leurs sensibilités respectives. Pour ce faire, trois épreuves sont à utiliser dans la mesure du possible :

- Le ring-test individuel permettant de détecter les animaux responsables du RT de mélange positif et d'accroître les chances de détection de l'infection,
- La recherche bactériologique (lait et sécrétions génitales des animaux positifs en RT ou/et en sérologie), qui permet de poser un diagnostic de certitude lorsqu'elle est positive,
- L'épreuve allergique sur l'ensemble du troupeau qui permet de confirmer des résultats sérologiques peu probants et d'accroître les chances de détection de l'infection et la rapidité des mesures d'assainissement en réduisant le risque de pérennisation de l'infection sous forme de brucellose latente.

L'usage judicieux de ces épreuves complémentaires doit permettre de lever la plupart des hésitations, la fermeté des agents sanitaires devant prévaloir sur l'expectative dès la mise en évidence de l'infection.

CONCLUSION

L'emploi des méthodes de diagnostic doit en brucellose bovine comme ailleurs être adapté au plus près à la situation épidémiologique et aux objectifs poursuivis et doit avant tout prendre en compte les qualités intrinsèques de chacune des méthodes. La baisse de prévalence s'accompagne d'une plus grande proportion d'animaux à réponse diagnostique "atypique" et la population infectée restante comprend davantage d'animaux à infection chronique à faible niveau de réponse immunitaire [1, 5]. Le coût d'une erreur diagnostique est alors augmenté, les erreurs par défaut augmentant les risques de réapparition de foyers, les erreurs par excès induisant un programme lourd de contrôle approfondi. Parmi les "bonnes vieilles méthodes", certaines doivent être sans scrupule rangées au musée, les autres peuvent et doivent toujours être mieux utilisées dans l'attente de nouvelles plus performantes.

Je vous invite pour conclure à méditer ces mots récemment écrits par Chappel, spécialiste australien de la brucellose [1] :

"The diversity of serological tests available reflects the inherent difficulties of serological diagnosis, and in some cases it would be more profitable to make better use of existing procedures than to continue to develop new ones".

BIBLIOGRAPHIE

1. CHAPPEL R.J.- *Diagnosis of bovine brucellosis : principles, practice and problems.* Surveillance, 1989, **16** (2), 3-6.
2. ELOIT M.- *La brucellose bovine en France. Bilan de l'année 1988.* Epidémiol. Santé anim., 1989, **16**, 1-8.
3. FENSTERBANK R.- *Le diagnostic allergique de la brucellose.* Bull. Acad. Vét. de France, 1982, **55**, 47-52.
4. GARIN-BASTUJI B., TRAP D. et PLOMMET M.- *Brucellose bovine. Fiabilité des épreuves de diagnostic.* Semaine Vét., 1988, **492**, 10-11.
5. GARIN-BASTUJI B. et MOUTOU F.- *Méthodologie de l'immunodiagnostic.* In Immunologie Animale, P.P. Pastoret, A. Govaerts et H. Bazin eds, Flammarion Médecine-Sciences, Paris (sous presse), 657-663.
6. HORNITZKY M. and SEARSON J.- *The relationship between the isolation of *Brucella abortus* and serological status of infected, non-vaccinated cattle.* Aus. Vet. J., 1986, **63** (6), 172-174.
7. HUBER J.D. and NICOLETTI P.- *Comparison of the results of card, rivanol, complement-fixation, and milk ring tests with the isolation rate of *Brucella abortus* from cattle.* Am. J. Vet. Res., 1986, **47**, 1529-1531.
8. MACDIARMID S.C.- *A theoretical basis for the use of a skin test for brucellosis surveillance in extensively-managed cattle herds.* Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 1987, **6** (4), 1029-1035.
9. NICOLETTI P.- *The use of a *Brucella* protein antigen in dermal hypersensitivity as an adjunct method to diagnose bovine brucellosis.* Vet. Immunol. Immunopathol., 1983/1984, **5**, 27-31.
10. PLOMMET M.- *Les dernières étapes de la prophylaxie de la brucellose bovine.* Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 1984, **68** (8), 507-520.
11. ROEPKE M.H. and STILES F.C.- *Potential efficiency of milk ring test for detection of brucellosis.* Am. J. Vet. Res., 1970, **31**, 2145-2149.
12. STEMSHORN B.W., FORBES L.B., EAGLESOME M.D., NIELSEN K., ROBERTSON F.J. and SAMAGH B.S.- *A comparison of standard serological tests for the diagnosis of bovine brucellosis in Canada.* Can. J. Comp. Med., 1985, **49**, 391-394.
13. SUTRA L. et DUBRAY G.- *Interprétation des discordances entre le ring-test et les épreuves sérologiques utilisés dans le dépistage de la brucellose bovine.* Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 1987, **71** (10), 565-577.