



Dépistage sérologique de la brucellose bovine par l'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) et l'ELISA dans un centre de multiplication et de métayage bovin en république du Congo-Brazzaville

Amona².I, Miassangoumouka² J.P, Banga-Mboko^{1-2*}H, Adzona² P.P,³ Rabeson F. A, Ikolakoumou³ J.

¹Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et de Foresterie, Brazzaville, Congo

²Unité mixte de recherche sur les zoonoses, Centre de Recherches Vétérinaires et Zootechniques, Brazzaville, Congo

³Laboratoire d'Analyses Vétérinaires, Direction Générale de l'Élevage, Ministère de l'Agriculture et de l'Élevage, Brazzaville, Congo.

*Auteur correspondant : Banga-Mboko Henri. E-mail : henribangamboko@yahoo.fr, Tel. (+242) 06 685 14 76 / (+242) 05 577 80 25

Mots clés : Brucellose, Bovin, Séoprévalence, ELISA, Rose Bengale

Keywords : Brucellosis, Cattle, seroprevalence, ELISA, Rose Bengale

1 RESUME

Une enquête sérologique a été menée dans un centre de multiplication et de métayage bovin, au nord du Congo Brazzaville, afin d'évaluer la prévalence de la brucellose. Un échantillon de bovins en âge de reproduction, a été examiné par le Rose Bengale et l'ELISA. La prévalence cheptel de l'infection a été de 10, 25% à l'ELISA et de 8,97% au Rose Bengale. Les taux de prévalence par sexe étaient de 7,69% chez les mâles contre 9,23% chez les femelles et 7, 69% chez les mâles contre 10,76% chez les femelles respectivement pour le Rose Bengale et ELISA. Les jeunes animaux ont présenté des taux de prévalence plus élevés. Au Rose Bengale, 16,66% chez les génisses, 10% chez les taurillons contre 2,25% et 0%, respectivement pour les vaches et taureaux. L'ELISA a révélé les taux de prévalence de 13,33%, 9,02%, 8,57% et 0%, respectivement chez les génisses, taurillons, vaches et taureaux. 42,85% de sérums positifs au Rose Bengale étaient négatifs à l'ELISA et 50% de sérums positifs à l'ELISA étaient négatifs au Rose Bengale. 7,15% de sérums ont été positifs au Rose Bengale et ELISA. L'étude suggère l'abattage des animaux infectés et un sérodiagnostic sur le reste du cheptel.

Serological survey on bovine brucellosis by using Rose Bengale and ELISA tests in a breeding and sharecropping bovine center in Congo

SUMMARY

A serological survey was conducted in a centre of multiplication and bovine sharecropping, in northern Congo Brazzaville to assess the prevalence of brucellosis. A sample of the reproductive age in cattle, was considered by the Rose Bengale and ELISA. The herd infection prevalence was 10, 25% in ELISA and 8.97% Rose Bengale. The sex prevalence rates were 7.69% in males versus 9.23% for females and 7, 69% in males versus 10.76% in females respectively for the Rose Bengale and ELISA. Young animals showed higher prevalence rates. Rose Bengale detected, 16.66% of infection in heifers, 10% among bulls against 2.25% and 0% respectively for cows and bulls. The ELISA revealed the prevalence rate of 13.33%, 9 .02%, 8.57% and 0% in heifers, bulls



and cows. By contrast, 42.85% positive sera in Rose Bengale test were negative in ELISA and 50% of positive sera were negative in the ELISA and Rose Bengale. Finally, 7.15% of the sera was both positive to the Rose Bengale and ELISA. The study suggests the slaughter of infected animals and the serodiagnostic tests of the remaining herd.

2 INTRODUCTION

En Afrique subsaharienne, la plupart des maladies infectieuses connues surviennent fréquemment et sont mal contrôlées, à la fois dans l'élevage et dans les populations humaines (Mangen et al., 2002). Dans les conditions de conduite d'élevage en Afrique, les infections virales, bactériennes ou parasitaires sont à l'origine d'avortements, de mortinatalités et des cas d'infertilités compromettant ainsi toute tentative d'amélioration de la productivité des animaux. Parmi ces infections figurent la « brucellose ». Maladie infectieuse, contagieuse et à déclaration obligatoire frappant plusieurs espèces animales et l'homme (zoonose). La brucellose se caractérise cliniquement par l'avortement chez les femelles (au dernier tiers de la gestation plus généralement vers le 6ème ou 7ème mois chez les bovins.), une atteinte urogénitale chez le mâle le plus souvent sous forme d'orchite, d'hygromas, d'épididymite et l'infertilité (Seleem et al., 2010). Depuis sa découverte à Malte en 1887 par le Major David BRUCE, la brucellose connue encore sous le nom de « fièvre de Malte » s'est répandue dans tous les pays du monde entier frappant à la fois les bovins, ovins, caprins, porcins bref tous les mammifères domestiques et un assez grand nombre d'animaux sauvages (Cervidés, Chamois, Sanglier...) (Merial, 2004). Elle pose un double problème : économique et sanitaire (John et al., 2002 ; Akakpo et al., 2009). L'homme est également atteint et, elle est considérée comme l'une des zoonoses les plus répandues dans le monde (Seleem et al., 2010). Les impacts économiques varient selon les espèces, les systèmes de gestion d'élevage, les zones géographiques, les méthodes de diagnostics, la capacité des systèmes vétérinaires et médicaux de chaque pays (Akakpo et N'dour, 2013 ; McDermott et al., 2013 ; Boukary et al., 2014). Quant à ses effets sur l'élevage, les avortements

enregistrés ralentissent la multiplication des animaux et réduisent l'approvisionnement en viande et autre denrées d'origine animale, la fragilité des animaux, la baisse du prix des animaux à l'exportation et des dépenses élevées liées à la lutte et à l'éradication (John et al., 2002). En sa qualité de zoonose la plus répandue dans le monde, elle représente également une menace sérieuse pour la santé humaine et le bien-être des populations (OMS, 1986 ; Corbel, 2006 ; Lopes et al., 2010). Bien qu'éradiquée ou en voie de l'être dans bon nombre de pays industrialisés, cette maladie constitue encore de nos jours une source de préoccupation dans les pays en voie de développement (Lopes et al., 2010 ; McDermott et al., 2013 ; Boukary et al., 2014). En effet, les travaux effectués dans la sous-région démontrent qu'une grande partie du cheptel bovin des pays africains s'avère contaminée par la maladie (Mangen et al., 2002 ; Koutinhouin et al., 2003 ; Schelling et al., 2004 ; Traoré et al., 2004 ; Cadmus et al., 2006 ; Asmare et al., 2013 ; Adamou Harouna, 2014 ; Sylla et al., 2014). Par ailleurs, Delafosse et al., (2002), ont montré d'après les études menées dans la région du lac Tchad que près de la moitié des femelles infectées par la brucellose avortent. Or, en cas de forte prévalence, ceci réduit de manière importante la fertilité du cheptel, donc entrave considérablement le développement de l'élevage et par conséquent la production. Pays à vocation agricole, en 2010, le Congo avait un cheptel estimé à 23 123 têtes de bovins, (Direction Générale de l'Élevage, 2010). Malgré cet effectif, la production de la viande notamment la viande bovine n'arrive pas à couvrir la demande bien modeste du consommateur. Au plan national, cette production est très faible (134 tonnes en 2007). Celle-ci n'a contribué qu'à hauteur de 1,44% à la couverture de la consommation nationale (FAO, 2009). De ce fait, le Congo



demeure l'un des principaux importateurs mondiaux de la viande pour couvrir les besoins de la population (FAO, 2009). Pour diminuer la dépendance du pays vis-à-vis des importations, le gouvernement Congolais a mis en place quelques projets de développement de l'élevage bovin ayant trait au renforcement du cheptel bovin au Congo parmi tant d'autres le Programme National de Réhabilitation (reconstitution) du cheptel ou de repeuplement des élevages bovins caractérisé par la création de deux centres d'appui technique (CAT) à l'instar de Boundji et de Dihessé, ayant pour missions principales l'acclimatation, la multiplication ou reproduction, la sélection des bovins et la formation des éleveurs. Ces centres servent de points du métayage bovin, une activité qui consiste à prêter les animaux aux éleveurs, après des années de multiplication. Ceci pour répondre à la dynamique de repeuplement des élevages bovins au Congo, décimés pendant les conflits socio-politiques connus en 1993, 1997 et 1998. Le ranch de Boundji élève les bovins issus de deux

races à viande : la Ndama et la Lagune en provenance du Sénégal, de la République Démocratique du Congo et de la République Centrafricaine. Les animaux présents dans le ranch n'ont jamais été vaccinés contre la brucellose et aucune épreuve de dépistage sérologique n'a jamais été menée sur les animaux nouvellement arrivés. Par ailleurs, quelques études sur le dépistage de la brucellose réalisées au Congo ont révélé l'existence de la maladie chez les bovins (Ngoy et al., 1989 ; Olloy 1992), et tout récemment chez les petits ruminants (Batola Moutombo , 2013). La présente étude vérifie l'hypothèse qu'un ranch servant de multiplication donc de la reproduction des bovins en vue de leur diffusion en milieu rural, est indemne des maladies abortives comme la brucellose. Ce travail a donc pour objectif de mener une enquête sérologique de la brucellose dans une population bovine apparemment saine au Centre d'Appui Technique de Boundji par l'utilisation de deux tests sérologiques.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1 Zone de l'étude : L'étude a été réalisée au centre de multiplication et de métayage bovin situé à environ 518 kilomètre² au Nord de

Brazzaville dans le Département de la Cuvette, précisément dans le District de Boundji (figure 1 et 2).

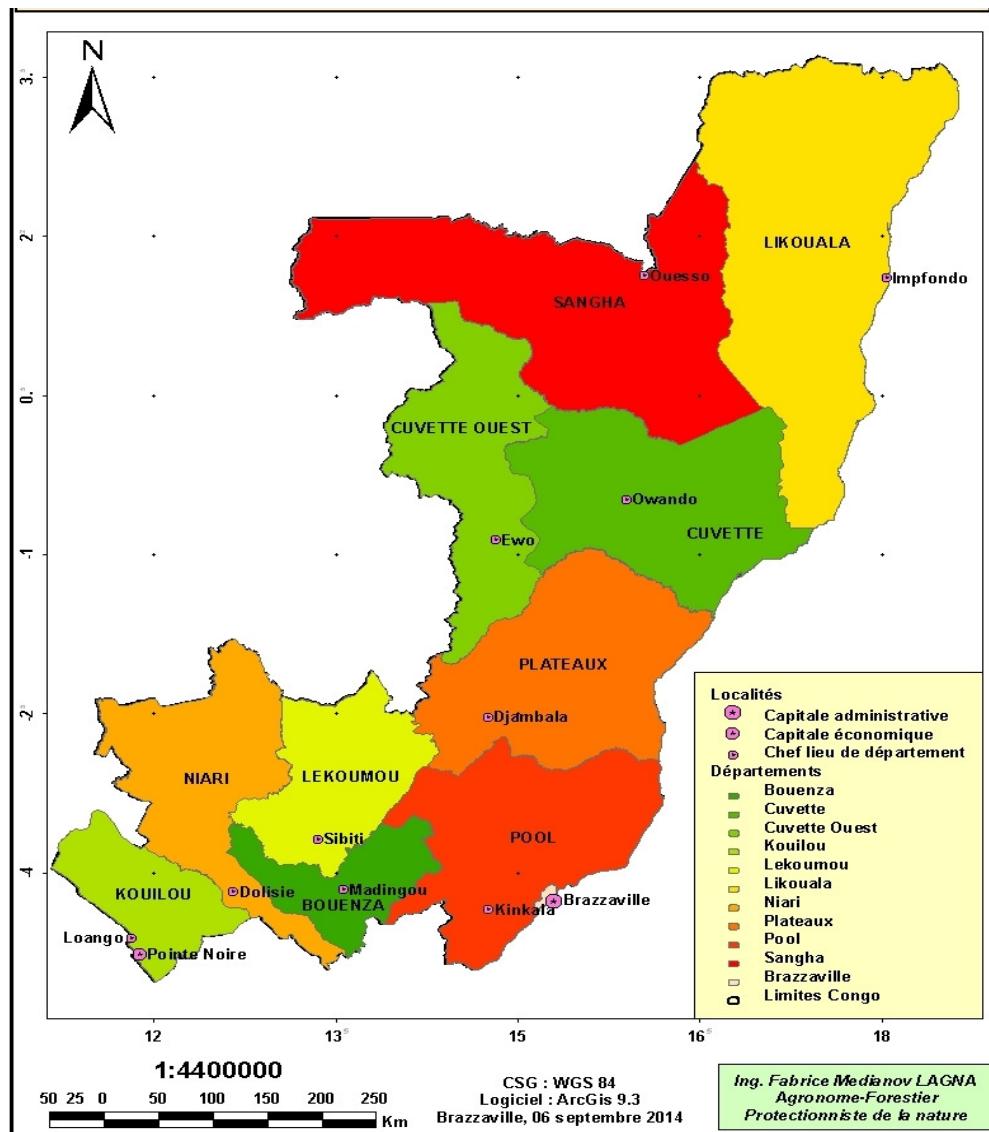


Figure 1 : Découpage administratif de la république du Congo.

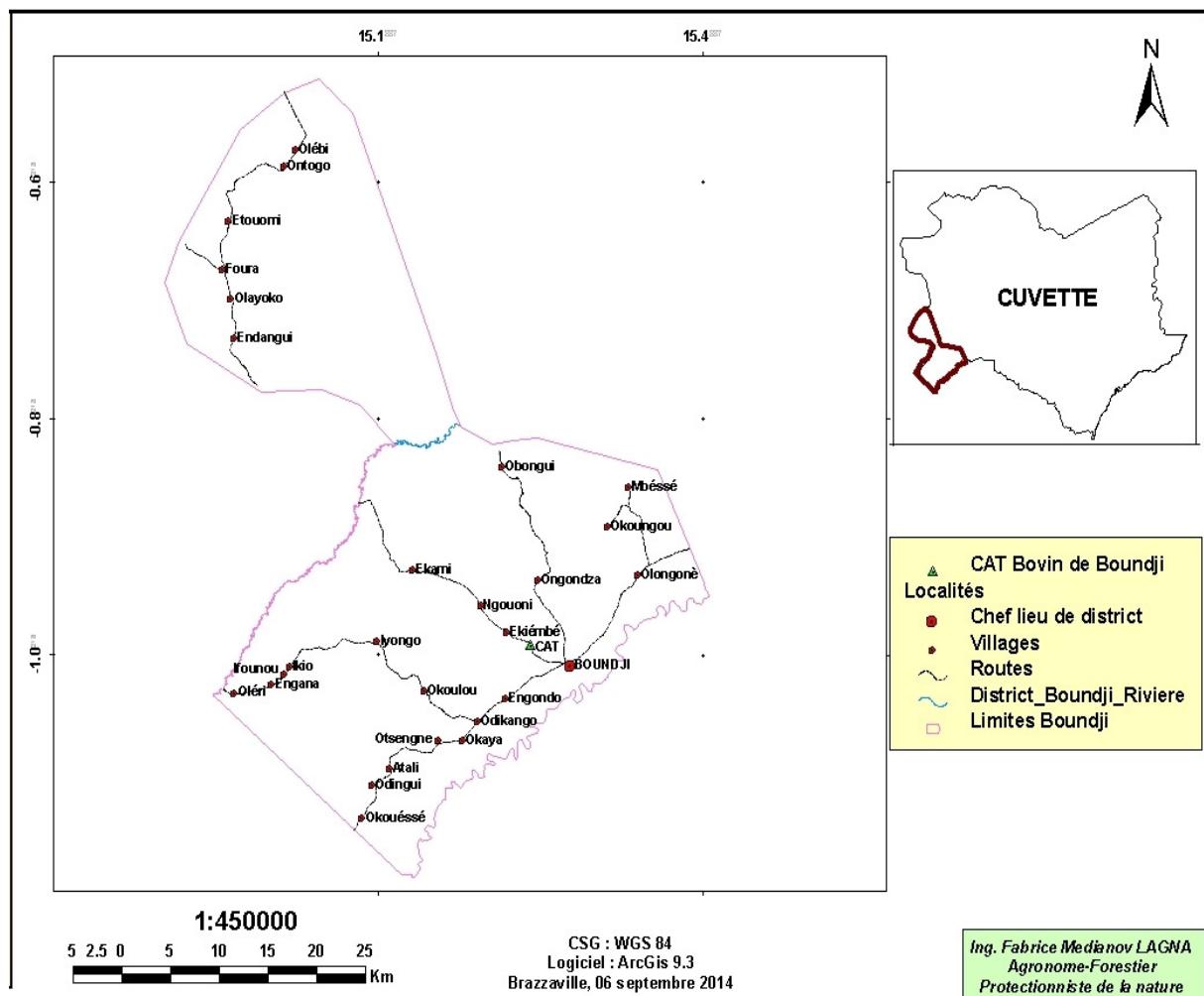


Figure 2. Présentation du district de Boundji

Le parc bovin est à 2,5 Kilomètres de Boundji-centre sur l'axe Boundji-Ewo. Cette zone est située au sud de l'équateur, comprise entre 1°37,692' de latitude Sud et 14°37,956' de longitude Est. L'altitude oscille autour de 445 m. La zone étant septentrionale du Congo, est couverte par un climat de type guinéen forestier ; elle se caractérise par une uniformité de températures et d'humidité atmosphérique (Ministère de l'agriculture et de l'élevage, 2012). La température annuelle est comprise entre 25°C et 26°C avec une pluviométrie annuelle de 1600-1800 mm, l'humidité relative est de 75% (Ministère de l'agriculture et de l'élevage, 2012). La végétation de la zone est une savane arbustive dont le tapis herbacé est floristiquement dominé

par *Loudetia demeusei*, *Hyparrhenia diplandra*, *Andropogon gayanus*, *Penniseteum sp*, et *Sétaria sp*, aux abords du cours d'eau de la Voum (Ministère de l'agriculture et de l'élevage, 2012).

3.2 Système d'élevage : Le mode d'élevage est de type semi-extensif. Les animaux séjournent dans des pâturages naturels. La nuit, ils sont regroupés dans les Kraals où sont placés des blocs de pierre à lécher. Dans les Kraals, les animaux subissent des traitements prophylactiques et sanitaires. L'alimentation est basée sur l'exploitation des pâturages naturels qui sont des parcours naturels caractérisés par des combinaisons de plantes fourragères. On y pratique la rotation des pâturages, la pratique de feux dirigés est courante en utilisant les pares



feux sous forme des couloirs. Les pâturages sont délimités en parcelles. Le ranch a une superficie totale de 317 ha soit 31.700.000 m² reparti en trois (3) parcs : Essimbi 1 : 207 ha ; Essimbi 2 : 105 ha et Enzama : 105 ha.

3.3 Échantillonnage : Le cheptel du ranch était de 384 bovins repartis en 3 races : Ndama, Lagunes et mixte (croisement Ndama x Lagune). Pour cette étude, avec une prévalence estimée à 5% et une probabilité du taux de dépistage de

99%, par utilisation de la table de contingence de Putt et *al.*, (1987) sur la taille de l'échantillon en fonction de la population, un échantillon de 78 têtes de bovins en âge de reproduction a été calculé dans l'ensemble du cheptel. Les animaux admis au test de dépistage ont été sélectionnés de façon aléatoire dans les trois parcs. Le tableau 1 présente la répartition de l'échantillon en fonction de la race et du sexe.

Tableau 1. Répartition raciale de l'échantillonnage

Race	Structure raciale						
	Ndama		Lagune		Métis		
Sexe	Male	femelle	Male	femelle	Male	femelle	
Effectif/sexe	13	58	-	5	-	-	2
Effectif/ race		71		5		2	
Effectif total				78			

3.4 Méthode de diagnostic : Des prélèvements de sang ont été effectués sur des bovins en âge de reproduction (mâles et femelles) choisis au hasard dans l'ensemble du cheptel du ranch. Le sang a été prélevé après contention de chaque animal par ponction de la veine jugulaire, à l'aide d'une aiguille fixée au porte tube et d'un tube sec, propre sous vide. Les sérums prélevés ont été testés au Rose Bengale et à l'ELISA. Les sérums ont été analysés au laboratoire du Centre de recherches vétérinaires et zootechniques (CRVZ) pour le Rose Bengale et au laboratoire d'analyses vétérinaire de la direction générale de l'élevage pour le test ELISA selon le protocole décrit dans les kits.

3.4.1 Dépistage de la brucellose par l'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) : Le BENGATEST utilisé est un antigène tamponné acide, coloré par le Rose Bengale pour le diagnostic sérologique de brucellose par agglutination rapide sur lame (Synbiotics Bengatest, 2010).

3.4.1.1 Mode opératoire

Identification et étalage des lames sur la table : Les lames ont été numérotées selon l'ordre de la numérotation effectuée sur les tubes contenant les échantillons de sérums et, ont été

par la suite étalées sur la table. Le flacon de l'antigène était agité puis une goutte de 30µl de l'antigène a été déposée sur chaque lame. Ensuite, à côté de chacune des gouttes du test, une goutte de sérum à examiner de volume égal à celui de l'antigène était également déposée sur les mêmes lames à l'aide d'une micropipette réglable. L'ensemble antigène-sérum a été homogénéisé chaque fois que le sérum était déposé à côté de l'antigène à l'aide des embouts fixés à la micropipette. La lecture a été faite 4 minutes après homogénéisation du sérum à l'antigène. En effet, lorsque l'antigène coloré au Rose Bengale est mis en présence de sérums contenant des anticorps spécifiques, il se produit une agglutination visible à l'œil nu, tandis qu'en l'absence d'anticorps, le mélange est homogène.

3.4.2 Dépistage de la brucellose par le test ELISA : Le kit « SERELISA » utilise une technique immuno-enzymatique indirecte permettant la détection dans les sérums bovins (selon la réglementation en vigueur) des anticorps anti-lipopolysaccharides (LPS) de Brucella (Synbiotics Serelisa, 2013). La réalisation de ce test passe par plusieurs étapes.

3.4.2.1 Préparation, distribution des témoins et échantillons de sérums : Après la



préparation de la microplaque, les flacons des témoins (positifs et négatifs) ont été agités et dilués au 1/10^{ème} dans le diluant des échantillons dans chaque cupule, à raison de 10µl pour chaque témoin dans 90µl de diluant des échantillons. Sur chaque microplaque, le témoin négatif (N) était déposé dilué dans les cupules A1 et A2, le témoin positif (P) dilué dans les cupules B1 et B2 à raison de 100µl par puits. Tout comme les témoins, les sérums ont été également préparés et distribués sur la microplaque. Ils ont été préparés en les diluant au 1/10^{ème} dans le diluant des échantillons dans chaque cupule ou puits, à raison de 10µl de sérum dans 90µl de diluant des échantillons. Les échantillons ont été testés en double pour chaque microplaque et leur distribution a été effectuée en ligne à raison de 100µl de sérum (mélange sérum-diluant des échantillons) par puits. Pour tous les échantillons, deux microplaques de 96 cupules chacune étaient utilisées. La microplaque était ensuite recouverte avec du film adhésif et elle était agitée manuellement dans un premier temps puis par l'agitateur pour une homogénéisation plus aisée des solutions distribuées. Cette manipulation a été suivie d'une incubation de la microplaque à 37°C pendant 1h. La microplaque retirée à l'incubation est soumise au lavage, 4 fois avec de l'eau distillée et la solution de lavage. L'opération a consisté à distribuer dans chaque puits une quantité d'eau de 200µl. Entre chaque lavage, le liquide contenu dans la microplaque était aspiré. Après la dernière aspiration consécutive au dernier lavage, la totalité d'eau contenue dans les puits était éliminée par retournement et tapotement de la microplaque.

3.4.2.2 Préparation et distribution du conjugué : Le conjugué était préparé en le diluant dans le diluant du conjugué. La distribution du conjugué était faite juste après le lavage à raison de 100µl de conjugué dilué dans toutes les cupules. Le conjugué distribué a été par la suite mis à l'incubation à 37°C pendant 30 mn et lavé 4 fois. A chaque distribution, la plaquette était recouverte du film adhésif et ce dernier était ôté pour le passage de l'étape du lavage et d'ajout d'autre solution.

• **Ajout du substrat et de la substance**

d'arrêt : Le substrat, solution prête à l'emploi a été distribuée dans les cupules à la dose de 100µl par cupule et mis à l'incubation à 25°C à l'obscurité pendant 30mn. Retirée de l'incubateur, la plaquette a été tapoté légèrement et la substance d'arrêt a été distribué à raison de 50µl par de cette solution par cupule. Enfin, la plaquette était mise dans l'appareil pour la lecture.

• **Lecture :** Pour la lecture les plaques testées ont été placées à tour de rôle sur le plateau de l'appareil ELISA connecté à un ordinateur. L'ordinateur affiche automatiquement les densités optiques des sérums de contrôle (témoins négatif et positif) et de chaque échantillon. Ainsi, les résultats ont été obtenus par comparaison des densités optiques (DO) des échantillons à la valeur seuil du DO positif. Les résultats une fois affichés à l'écran, étaient reportés sur les fiches d'analyse ELISA test pour pouvoir réaliser d'autres calculs plus approfondis. Les résultats de la série étaient validés si :

Moyenne DO P ≥ 0,5 et Moyenne DO N < 0,3
En effet, la présence ou l'absence d'anticorps anti-LPS de Brucella a été déterminée par comparaison des Densités Optiques (DO) à des valeurs seuils obtenues à partir du témoin positif.

3.4.3 Analyses et interprétation des résultats

Calcul des densités optiques du test ELISA :
Deux méthodes de calculs ont été utilisées :

Méthode 1 : calcul des indices : Dans cette méthode, la valeur seuil positive en indice est égale à 0. Ainsi:

- tout échantillon présentant un indice ≥ 0 est considéré comme positif ;
- tout échantillon présentant un indice < 0 est considéré comme négatif.

Pour le calcul de l'indice, la formule suivante a été utilisée :

Indice échantillon = $0,50 \times (\text{DO échantillon} - 0,6 \times \text{moyenne DO P})$.

Méthode 2 : analyse de densités optiques : Le principe de cette méthode est de comparer chacune de valeurs DO des échantillons à la valeur seuil positive. De ce fait, deux observations sont notées :



- les échantillons considérés positifs sont ceux présentant une valeur DO \geq valeur seuil positive (α)
- les échantillons considérés comme négatifs sont ceux présentant une valeur DO $<$ valeur seuil positive (α).

En effet, la valeur seuil positive (α) est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Valeur seuil positive } (\alpha) = 0,6 \times (\text{moyenne DO P})$$

4 RESULTATS

Les résultats obtenus pour les deux tests sont consignés dans les tableaux 2,3 et 4. Dans ces tableaux sont mentionnés les résultats relatifs à la prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale et à l'ELISA en fonction de la race, du sexe et de la catégorie des animaux testés. Aussi les résultats sur la convergence et la divergence entre animaux infectés aux deux tests sont également rapportés.

4.1 Prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale et au test ELISA en fonction de la race. : Le tableau 2 montre une variabilité des résultats obtenus par le test RB et

Calcul des taux de prévalence : Le calcul des taux de prévalence était effectué en utilisant la formule suivante :

$$\text{Prévalence apparente} = \frac{\text{Animaux positifs au test}}{\text{Animaux testés}} \times 100$$

Analyses statistiques (test de chi deux) : Pour la vérification de la prévalence observée à la prévalence attendue, les données ont été analysées à partir du test de chi deux, du logiciel R.

le test ELISA entre les trois races. Aussi, à l'intérieur d'une même race, les taux de prévalence sont beaucoup plus élevés chez les femelles que chez les mâles. Au Rose Bengale, les plus infectées sont les femelles lagunes avec 20% du taux de prévalence contre 10,34% et 0%, respectivement pour les femelles Ndama et celles issues du croisement Ndama x Lagune. Par contre, pour le test ELISA les femelles de la race Ndama se sont révélées plus positives à l'infection (12,06%) que celles issues des deux autres races, aucun cas n'a été décelé chez les lagunes et les métissés.



Tableau 2 : Prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale et au test ELISA en fonction de la race.

Race	Ndama				Lagune				Mixte			
	Sexe		Male	Femelle	Male		Femelle		Male		Femelle	
Effectifs animaux prélevés												
Type du test	RB	ELISA	RB	ELISA	RB	ELISA	RB	ELISA	RB	ELISA	RB	ELISA
Animaux positifs	1	1	5	7	-	-	1	0	-	-	0	0
Prévalence (%)	7,69	7,69	10,34	12,06	-	-	20	0	-	-	0	0

3.2. Prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale selon le sexe et la catégorie des animaux : Les données obtenues pour ces paramètres sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3. Prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale selon le sexe et la catégorie des animaux

Catégorie animaux	Taurillons		Taureaux		Génisses au taureau		Vaches		Troupeau mâles		Troupeau femelles		Cheptel	
	Effectifs animaux prélevés	R	ELIS	R	ELIS	RB	ELISA	RB	ELIS	RB	ELISA	RB	ELISA	Cheptel
Type du test		B	A	B	A				A					
Animaux positifs	1	1	0	0	5	4	1	3	1	1	6	7	7	8
Prévalence (%)	10	10	0	0	16,66	13,33	2,8	8,57	7,69	7,69	9,23	10,76	8,9	10,25
						5						7		

RB. Rose Bengale



Pour les deux tests, les résultats du tableau 3 stipulent que, le nombre de cas positifs de la brucellose est beaucoup plus élevé chez les génisses que chez les vaches, les taurillons et les taureaux.

3.3. Prévalence apparente de la brucellose au Rose Bengale selon le sexe et la catégorie des animaux : Les données obtenues pour ces paramètres sont présentées dans le tableau 3. Pour les deux tests, les résultats du tableau 3 stipulent que, le nombre de cas positifs de la

brucellose est beaucoup plus élevé chez les génisses que chez les vaches, les taurillons et les taureaux.

3.4. Convergence et divergence de résultats en Rose Bengale et à l'ELISA : Le tableau 4 rapporte les points de convergence et de divergence observés entre les deux réactifs. Sur les 78 sérums analysés, 1 seul s'est révélé positif aux deux tests et 14 ont présenté des statuts divergents : 6 sérums uniquement en Rose Bengale et 7 uniquement à ELISA.

Tableau 4. Étude analytique des résultats obtenus en Rose Bengale et à l'ELISA

N° de l'échantillon	Race	Sexe	Réaction au RB	Réaction à l'ELISA
3	Ndama	F	+	-
4	Ndama	M	-	+
12	Ndama	F	+	+
17	Ndama	F	-	+
22	Ndama	F	+	-
23	Ndama	F	-	+
24	Ndama	M	-	-
25	Ndama	F	-	+
27	Ndama	F	-	+
35	Ndama	F	-	+
42	Ndama	F	+	-
60	Ndama	F	-	+
61	Ndama	F	+	-
62	Ndama	M	+	-
69	Lagune	F	+	-
Total			7	8

3.5 Résultats relatifs aux analyses statistiques (test de chi deux) : A l'issue de cette analyse il s'est avéré que la différence entre la prévalence observée et celle attendue est

significative. La prévalence attendue a été estimée à 5%, elle est largement inférieure à celles obtenues (8,97% et 10, 25%), respectivement pour l'EAT et l'ELISA.

4 DISCUSSION

4.1. Prévalence au Rose Bengale : L'analyse des sérums au Rose Bengale a révélé un taux de positivité de 8,97%. Cette prévalence est largement inférieure de celle obtenue par le laboratoire vétérinaire scientifique (Ngoy et al., 1989), évaluée à 16,70% et inférieure de celle obtenue par Olloy, (1992) au Congo avec 12,04%. Les divergences entre ces résultats ne signifient pas obligatoirement que la brucellose bovine soit en voie de régression au Congo. Dans

la sous-région, la prévalence obtenue est proche de celles obtenues par Koutinhouin et al., (2003) au Benin et par Sylla et al., (2014) au Guinée avec 10,7 et 8,67% des taux de prévalence. Elle est plus élevée de celles obtenues par Schelling et al., (2004) au Tchad ; Cadmus et al., (2006) au Nigeria ; Kouamo et al., (2010) au Sénégal et Sow, (2011) au Mali, qui sont respectivement de 7% ; 5,82% , 5,9%, et 1,5%. Par ailleurs, cette prévalence est moins élevée de celles obtenues



par Traoré et al., (2004) à Ouagadougou (Burkina-Faso) dont la prévalence était évaluée à 13,2%. La différence du taux d'infection au Burkina-Faso peut s'expliquer du fait que le pays se trouve dans la zone Sahélienne où les animaux effectuent d'énormes déplacements (transhumance) à la recherche d'eau et de pâturages (Olloy, 1992). De ce fait, ils peuvent facilement se contaminer et disséminer la maladie dans tout le territoire national.

4.2 Prévalence au test ELISA : La prévalence avec l'ELISA a été de 10, 25%. Ce résultat est largement supérieur de ceux obtenus par Thys et al., (2005) en Côte d'Ivoire, Kouamo et al., (2010) au Sénégal, et par Bouziri et al., (2011) en Alger, respectivement 1,5%, 2,55% et 2,4%. Ce résultat peut être justifié du fait que le contexte de l'étude était différent d'une zone à une autre. De plus les conditions dans les entités où les études étaient menées sont différentes. Dans certains pays d'Afrique, beaucoup d'études sur la brucellose sont menées, ainsi les risques de contamination sont minimisés. La prévalence obtenue par le test ELISA dans la présente étude est inférieure à celle de Koutinhouin et al., (2003) lors d'une étude sur la prévalence de la brucellose bovine dans les élevages encadrés par le Projet pour le développement de l'élevage au Bénin. Dans cette étude, la prévalence de la brucellose par l'ELISA était évaluée à 15,2%. Pour les deux tests, les résultats montrent une différence de séropositivité à la brucellose entre groupe d'animaux, l'âge, le sexe et la race. Ceci est en accord avec les travaux menés dans la sous-région (Kubuafor et al., 2000 ; Haile selassie et al., 2010 ; Asmare et al., 2013).

4.3 Effet du sexe sur la prévalence de la brucellose : Les résultats obtenus montrent une influence de la séroprévalence de brucellose par rapport au sexe. En effet, l'influence trouvée dans cette étude est en accord avec les observations antérieures faites par Traoré et al., (2004) qui rapportent les taux de 5,6 % chez les mâles et 14,3 % chez les femelles. Cette tendance se justifie dans cette étude pour la simple raison que l'effectif des mâles dans l'échantillon était moins représentatif. De ce fait, la probabilité d'avoir

beaucoup de cas positifs chez les mâles est réduite. De plus, dans tout élevage, les femelles sont souvent gardées pour la reproduction. C'est ainsi qu'elles sont beaucoup plus exposées aux risques de contamination. Ces résultats intègrent également les travaux de Kubuafor et al., (2000), menés au Ghana, qui révèlent une différence dans la séroprévalence entre les femelles 11/129 (8,5%) et les males 1/54 (1,9%).

4.4 Effet de l'âge sur la prévalence de la brucellose : Dans un troupeau et selon la catégorie des animaux, une augmentation significative de la séropositivité à l'égard de l'âge a été démontrée (Kubuafor et al., 2000). En effet, la présente étude a montré un pourcentage élevé de cas positifs chez les jeunes. Ces observations ont été faites dans le troupeau des femelles où les taux d'infection obtenus chez les génisses et les vaches sont respectivement de 13,33% et 8,57% pour le test ELISA, 16,66% et 2,85% pour le Rose Bengale. Par contre, le constat fait par d'autres travaux (Kubuafor, 2000 ; Asmare et al., 2013) démontre le contraire. Pour ces auteurs, la prévalence augmente avec l'âge, l'incidence est beaucoup plus élevée chez les animaux âgés et faibles chez les jeunes. La tendance paraît logique car plus l'animal vieillit, plus il a de chance d'avoir été infecté, de le demeurer et d'être dangereux pour les autres animaux (Koutinhouin et al., 2003). Cette augmentation du risque d'infection avec l'âge correspond logiquement à une plus grande probabilité d'exposition au risque chez les animaux âgés. De plus, La brucellose est une maladie essentiellement des animaux sexuellement matures et la sensibilité au test augmente avec la maturité sexuelle et la gestation en raison de l'influence des hormones sexuelles (Asmare et al., 2013).

4.5 Convergence et divergence des résultats en Rose Bengale et à l'ELISA : Les résultats obtenus par la présente étude montrent quelques concordances et discordances de la positivité entre les deux réactifs. Ceux-ci réitèrent les travaux de Adamou Harouna, (2014) au Nigéria expliquant la variabilité des résultats entre l'EAT et l'ELISA. Sur l'ensemble des sérum positifs, 42,85% de sérum qui se sont révélés



positifs au Rose Bengale sont négatifs à l'ELISA, et 50% positifs à l'ELISA se sont révélés négatif au Rose Bengale. 7,15% de sérums ce sont révélés positifs au RB et à l'ELISA. Ces résultats réitèrent d'une part les travaux de Sow, (2011) au Mali avec un taux de confirmation de la prévalence de 0% pour les sérums de vaches et chèvres positifs au Rose Bengale mais se sont révélé tous négatifs à l'ELISA. D'autre part, l'étude menée par Thys et *al.*, (2005) en zone forestière de la Côte d'Ivoire a montré que sur 8 sérums positifs au Rose Bengale, 4 (50%) se sont révélés positifs à l'ELISA. Par ailleurs, l'étude menée par Adamou Harouna, (2014) a montré que le nombre de sérums positifs à l'EAT (12/219) a été supérieur à celui obtenu par l'ELISA (4/219). Le nombre de sérums positifs à l'ELISA est légèrement supérieur à celui obtenu par le Rose Bengale. Paradoxalement, Koutinhouin et *al.*, (2003) démontrent le contraire, tous les animaux séropositifs au test RB étaient également positifs au test ELISA alors que les animaux réagit positivement au test ELISA ne l'ont pas tous fait au test RB. Ces résultats s'expliquent. D'après Sibille, (2006) 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 notoirement de la situation épidémiologique de la maladie. C'est une méthode plus sensible dans les pays où la maladie est contrôlée (la France et la Belgique par exemple), car étant un test de diagnostic assez précoce, il détecte mieux 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. Il est donc possible que le test ne détecte pas tous les animaux infectés chroniques,

dont le taux d'immunoglobulines M est très faible (Bouziri et *al.*, 2011). Il est aussi fort probable que la brucellose soit présente à l'état enzootique au Congo, puisqu'elle n'est pas efficacement contrôlée et que peu de cas cliniques aigues sont observés. De plus les épreuves sérologiques peuvent donner des résultats discordants en ce sens ou elles ne décèlent pas toujours les mêmes classes d'anticorps (Bouziri et *al.*, 2011). En effet, ces tests peuvent être défaillants dans la brucellose chronique où les hémocultures sont pratiquement toujours négatives. Très souvent, les erreurs par défaut (Faux positifs) et les erreurs par excès (Faux négatifs) peuvent être observées. Le RB, basé sur l'agglutination Ac-Ag rapide, n'est pas une réaction quantitative. Elle ne met en évidence que les anticorps IgG (Bouziri et *al.*, 2011). En revanche, le test ELISA, est une méthode quantitative, fait le rapport des densités optiques, mieux adapté au tirage spécifique des IgG et des IgM anti-Brucella (Bouziri et *al.*, 2011). De plus, l'ELISA permet également de donner un diagnostic sérologique de la brucellose chronique, période selon laquelle la cinétique des anticorps IgG décroît progressivement, d'où les résultats faussement négatif avec les méthodes qualitatives (positif/négatif) telle que Le RB (Bouziri et *al.*, 2011). Cette analyse démontre l'intérêt d'une application conjointe de ces deux méthodes pour pallier leurs défaillances respectives dans la détection de tous les anticorps témoins de l'infection brucellique. Au regard de ces résultats obtenus dans la présente étude, un dépistage de tout le cheptel du centre de multiplication et de métayage bovin de Boundji doit être effectué. Il convient également d'éliminer dans les effectifs tous les animaux déclarés positifs à l'infection brucellique.

5 CONCLUSION

L'objectif de ce travail était de dépister par sérologie la brucellose au CAT de Bounzi. Les résultats de deux tests sérologiques ont montré la présence de la maladie dans ce ranch. En conséquence, l'hypothèse formulée au début de cette enquête n'a pas été vérifiée du fait de la séro-

positivité des échantillons prélevés dans ce ranch et analysés au laboratoire. Cette étude a permis également de constater une variation de séro - prévalence entre les races, les groupes d'âge et les sexes. Les maladies abortives ont été négligées au Congo. En effet, aucune mobilisation n'a été



initiée ni pour la prévention ni pour les traitements. De même, les dépistages ne sont pas effectués ne fusse que dans des fermes de multiplication et de métayage. Dans ce contexte la maladie peut exister sous forme enzootique, et donc l'utilisation de deux tests est nécessaire pour déceler aussi bien les malades chroniques que les animaux nouvellement infectés. L'emploi simultané des épreuves sérologiques améliore le dépistage et permet d'accéder plus rapidement à l'éradication. Des contrôles systématiques des animaux dans les fermes sont nécessaires ainsi que des bonnes pratiques dans la conduite

générale des élevages et particulièrement dans la gestion de la santé animale. Dans ces conditions un dépistage régulier de l'infection est recommandé au niveau des fermes, à l'importation et à l'exportation des animaux et au niveau des abattoirs. Bien que le traitement des animaux contre la maladie coûte excessivement cher, un traitement sur les animaux de grande valeur (reproducteur) peut être envisagé. Enfin, une vaccination systématique des veaux à partir de 6 mois d'âge permettra de limiter considérablement le niveau de contamination et la diffusion de l'infection.

6 REMERCIEMENTS

L'étude a été financée par les fonds propres du Centre de Recherches Vétérinaires et Zootechniques de Brazzaville et a reçu un appui

technique de la Direction générale de l'élevage, du Centre d'Appui Technique bovin et du Centre de Santé Intégré de Boundji.

7 BIBLIOGRAPHIE

- Adamou Harouna H. 2014. Évaluation de trois tests de dépistage de la brucellose bovine pour une aide décisionnelle de contrôle de la maladie dans le bassin laitier de Niamey (Niger). Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en santé publique vétérinaire. École Inter États des Sciences et Médecine Vétérinaire, Dakar, Sénégal, 44.
- Akakpo A.J., Teko-Agbo A., Kone P., 2009. Impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique. Conférence de l'OIE, 71-84.
- Akakpo A.J., N'dour A.P.N., 2013. La brucellose bovine en Afrique de l'Ouest et du Centre : état de lieux. *Rev. Afr. Santé Prod. Anim.*, 11, 23-28.
- Asmare K., Sibhat B., Mollac W., Ayeletd G., Shiferaw J., Martin A.D., Skjerve E., Godfroid J., 2013. The status of bovine brucellosis in Ethiopia with special emphasis on exotic and crossbred cattle in dairy and breeding farms. *Acta Trop.*, 126, 186– 192.
- Batola Moutombo D-J.C.D., 2013. Séroprévalence de la brucellose ovine et caprine dans l'interface Homme/Animal domestique dans les ménages de Brazzaville. Mémoire (non publié) pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur de Développement Rural, option Agronomie. Université Marien Ngouabi, École Nationale Supérieure d'Agronomie et de Foresterie, Brazzaville, Congo, 64p.
- Boukary A.R., Saegerman C., Adehossi E., Matthys F., Vias G.F., Yenikoye A., Thys E., 2014. La brucellose en Afrique subsaharienne. *Ann. Méd. Vét.*, 158, 39-56.
- Bouziri D., Benyamina K., Goucem R., 2011. Étude comparative de la valeur de détectabilité de l'EAT et de la technique ELISA dans le diagnostic de la Brucellose. *Rev. Méd. Econ.*, 10, 2-7.
- Cadmus S.I.B., Ijagbone I.F., Oputa H.E., Adesokan H.K., Stack J.A. 2006. Serological Survey of Brucellosis in Livestock Animals and Workers in Ibadan, Nigeria. *Afr. J. Biomed. Res.*, 9, 163 – 168.
- Corbel M.J., 2006. Brucellosis in humans and animals. Geneva, Switzerland, WHO, Rome, 89.



- Delafosse A., Goutard F., Thébaud E., 2002. Épidémiologie de la tuberculose et de la brucellose des bovins en zone périurbaine d'Abéché, Tchad. *Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 55 (1), 5-13.
- Direction Générale de l'Élevage (DGE). 2010. Rapport d'activités (non publié) de la direction générale de l'agriculture et de l'élevage, Ministère de l'agriculture et de l'élevage, Brazzaville, Congo, 52p.
- FAO., 2009. Etats de lieux et cartographie de la filière bovine au Congo. In : Schéma directeur pour le développement des filières d'élevage, FAO, Rome. 1, 67.
- Haileselassie M., Shewit K., Moses K., 2010. Serological survey of bovine brucellosis in barka and arado breeds (*Bos indicus*) of Western Tigray, Ethiopia. *Prev. Vet. Med.*, 94, 28-35.
- John J. McDermott, Arimi S.M., 2002. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. *Vet. Microbiol.* 90, 111-134.
- Kouamo J., Habimana S., Alamedjji Bada R., Sawadogo G.J., Ouedraogo G.A., 2010. Séroprévalences de la brucellose, de la BVD et de l'IBR et impact sur la reproduction des femelles zébus Gobra et croisements inséminées en milieu traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal. *Rev. Méd. Vét.*, 161,(7), 314-321.
- Koutinhouin B., Youssao A.K.I., Houehou A.E., Agbadje P.M., 2003. Prévalence de la brucellose bovine dans les élevages traditionnels encadrés par le Projet pour le Développement de l'Élevage (PDE) au Bénin. *Rev. Méd. Vét.*, 154 (4), 271-276.
- Kubuafor D.K., Awumbila B., Akanmori B.D., 2000. Seroprevalence of brucellosis in cattle and humans in the Akwapim-South district of Ghana: public health implications. *Acta Trop.*, 76, 45-48.
- Lopes L.B., Nicolino R., Haddad J.P.A. 2010. Brucellosis - Risk Factors and Prevalence: A Review. *Vét. Sci. J.*, 4, 72-84.
- Mangen, M.-J., Otte, J., Pfeiffer, D., Chilonda P., 2002. Bovine brucellosis in Sub-Saharan Africa: Estimation of sero-prevalence and impact on meat and milk off take potential, livestock information and policy branch, AGAL, FAO, 53p.
- McDermott J., Grace D., Zinsstag J., 2013. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 32 (1), 249-261.
- Merial, 2004. Brucellose animale. Rapport de recherche, Écoles Nationales Vétérinaires Françaises. Unité de Pathologies Infectieuses, 47p.
- Ministère de l'agriculture et de l'élevage. 2012. Rapport d'activités (non publié) du secteur agricole de Boundji, Brazzaville, Congo, 26p.
- Ngoy J.J., Kiafuta D., 1989. État sanitaire du bétail dans un ranch bovin en République populaire du Congo (ranch de Louila). *Bull. Anim. Health. Prod. Afr.* 37, 333-336.
- Olloy A., 1992. Contribution à l'étude épidémiologique des maladies infectieuses abortives chez les bovins au Congo. Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en médecine vétérinaire. École Inter États des Sciences et Médecine Vétérinaire, Dakar, 90.
- OMS., 1986. Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose. Sixième rapport. Série de Rapports techniques, n° 740, OMS, Genève, 145.
- Putt S.N.H., Shaw A.N.H., Woods A.J., Tyler L., James A.D., 1987. Approche épidémiologique de l'étude des maladies. In : épidémiologie et économie en Afrique centrale, CIPA, 29-53.
- Schelling E., Diguimbaye C., Daoud S., Nicolet J., Zinsstag J., 2004. Séroprévalences des maladies zoonotiques chez les pasteurs nomades et leurs animaux dans le Chari-Baguirmi du Tchad. *Rev. Méd. trop.*, 64, 474-477.
- Seleem M.N., Boyle S.M., Sriranganathan N., 2010. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Vet. Microbiol.* 140, 392-398.
- Sibile C.M. A., 2006. Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la



- province de l'Arkhangai (Mongolie). Thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en médecine vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Toulouse, France, 149p.
- Sow I.M., 2011. Évaluation du risque de la brucellose lié à la consommation du lait frais dans la commune rurale de Cinzana. Mémoire pour l'obtention du DEA en sciences biologiques appliquées, option microbiologie appliquée, faculté des sciences et techniques, université de Bamako (Mali), 64p.
- Synbiotics. 2010. Notice d'usage Bengatest. Synbiotics Europe, France, 2p.
- Synbiotics. 2013. Notice d'usage Serelisa. Synbiotics Europe, France, 3, 2p.
- Sylla S., Sidimé Y., Sun Y., Doumbouya S., Cong Y., 2014. Seroprevalence investigation of bovine brucellosis in Macenta and Yomou, Guinea. *Trop. Anim. Health Pro.*, 46(7), 1185-1191.
- Thys E., Yahayam.A., Walravens K., Baudouxc., Bagayokoi, Berkvensd; Geerts S., 2005. Étude de la prévalence de la brucellose bovine en zone forestière de la Côte d'Ivoire. *Rev. Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 58(4), 205-209.
- Traoré A., Hamidou H.T., Bale B., David W. R., Nongasida Y., Moumouni S., 2004. Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intra urbain à Hamdallaye (Ouagadougou). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 8, 3-8.