

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 27 mars 2025

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif aux « éléments nécessaires pour le traitement des suspicions de
brucellose en prophylaxies »**

L'Anses a été saisie le 2 septembre 2024 par le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation pour la réalisation de l'appui scientifique et technique relatif aux éléments nécessaires pour le traitement des suspicions en prophylaxies de la brucellose bovine.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA DEMANDE

Les foyers de brucellose en 2012 et 2021 ont conduit à renforcer la surveillance des cheptels de ruminants vis-à-vis de la brucellose dans le Bary (Haute-Savoie) et les Aravis (Haute-Savoie et Savoie). La surveillance renforcée s'appuyait notamment sur l'épreuve cutanée allergique dans le processus de gestion des suspicions. Or, en 2022, après l'arrêt de fabrication de brucelline, ce test n'était plus disponible. Le laboratoire national de référence de Maisons-Alfort a donc optimisé et validé un test ELISA pour remplacer la brucellination ; ce test est désigné ELISAc (ELISA de confirmation). En 2023, ce test a été généralisé à la gestion de toutes les réactions positives de surveillance, au-delà de la seule surveillance renforcée dans les massifs du Bary et des Aravis. Ainsi, l'instruction technique prévoit l'utilisation de ce nouveau test ELISA dans les diagrammes des conduites à tenir en cas d'arrêt préfectoral de mise sous surveillance. En effet, l'application du diagramme prévu entraîne une interdiction de sortie des animaux pendant un délai de 9 à 14 semaines après le premier résultat positif en prophylaxie, avant tout recours à l'ELISAc.

L'appui scientifique et technique devra en particulier porter sur la mise en œuvre du test ELISAc dans la gestion des réactions positives à la suite de la prophylaxie, telle que prévue aux annexes 4 et 6 de l'instruction technique DGAL/SDSBEA/2022-961 du 28 décembre 2022.

Comme c'est le cas dans la gestion des réactions positives aux prophylaxies bovines dans les massifs du Bargy et des Aravis, le gestionnaire souhaite que pour l'ensemble du territoire, à la suite de la prise de l'arrêté préfectoral de mise sous surveillance (APMS) tel que définie à l'annexe 4, les prélèvements puissent être soumis au test de l'ELISAc soit sans délai, soit jusqu'à 4 semaines après la prise de l'APMS. Dans ce cas, le gestionnaire souhaite disposer des éléments qui pourraient conduire à une diminution de la qualité de la détection en appliquant, plus précocement qu'actuellement, le test de l'ELISAc.

2. ORGANISATION DES TRAVAUX

Pour répondre à ces points, l'équipe du LNR Brucellose, Laboratoire de Santé Animale, ANSES a fait le bilan des résultats obtenus depuis la mise en œuvre de l'ELISA de confirmation et la comparaison des résultats obtenus dans les départements 73-74 et le reste de la France.

2.1 Bilan des résultats obtenus depuis la mise en œuvre de l'ELISA de confirmation

Jusqu'en septembre 2022, il était possible de réaliser une épreuve cutanée allergique à la brucelline lors d'avortements ou pour les animaux identifiés comme suspects dans les exploitations dépistées par sérologie. Ce test avait une excellente spécificité et permettait d'éviter les abattages diagnostiques. Il présentait toutefois quelques inconvénients : ce test était difficile à standardiser ; il avait une sensibilité limitée, ce qui obligeait à traiter un groupe d'animaux ; un délai de six semaines était nécessaire avant de pouvoir tester à nouveau les animaux ; ce test n'était pas listé parmi ceux utilisables chez les bovins dans la Loi Santé animale. Depuis l'arrêt de la commercialisation de la brucelline, ce test allergique a été remplacé par une étape de confirmation par ELISA réalisée par le Laboratoire national de référence ou un abattage diagnostique. En 2022, 22 départements ont eu recours au test allergique sur 739 animaux (**tableau 1**) ; seuls trois animaux ont présenté une réaction positive.

Le test ELISA de confirmation a été réalisé sur cinq tests (dont trois positifs) en 2022, 35 tests (dont 20 positifs) en 2023 et 19 tests (dont 10 positifs) en 2024 (de Janvier à Août inclus). Les investigations complémentaires réalisées par abattage diagnostique ont porté sur 30 animaux en 2022 et 20 animaux en 2023. Ces chiffres sont comparables à ceux observés les années précédentes (entre 6 et 29 abattages diagnostiques entre 2015 et 2020), à l'exception de 2021, où un nombre plus important d'abattages diagnostiques avaient été réalisés (n=271) en lien avec le foyer de brucellose détecté en Haute-Savoie en 2021.

Le nombre de troupeaux considérés comme suspects suite à une déclaration d'avortement (i.e. ayant obtenu des résultats positifs au dépistage sérologique réalisé sur les femelles avortées) est resté très faible, en deçà de dix troupeaux (soit environ 0,01 %) (**tableau 1**). Suite aux investigations, les abattages diagnostiques ont conduit à infirmer toutes les suspicions.

Le bilan a porté sur les années 2022, 2023 et 2024, en répertoriant les animaux et les prélèvements soumis au test ELISAc.

Tableau 1. Investigations complémentaires dans les exploitations suspectes d'infection à la brucellose bovine, en France en 2022 et 2024 (données SPA)

Indicateurs/ Années	2022	2023	2024
Nombre de tests ELISA de confirmation réalisés par le LNR*	5	35	19
Nombre de résultats positifs au test ELISA de confirmation	3	20	10
Nombre d'animaux ayant subi une brucellination	739	SO	SO
Nombre d'animaux positifs à la brucelline	3	SO	SO
Nombre d'abattages diagnostiques	30	20	non disponible

*y compris seulement les animaux ayant présenté des résultats sérologiques négatifs pour la Fixation du Complément

Lors de la validation de l'ELISAc, le seuil de positivité retenu a été fixé à 65 %, cette valeur permettant de maximiser la spécificité et la sensibilité diagnostiques à l'aide de courbes ROC. Les titres moyens des animaux présentant un test ELISAc négatif (% calculé à partir des densités optiques obtenues par ELISAc) sont en majorité compris entre 6,2 % et 46,0 % (premier et troisième quartiles respectivement). Chez les animaux présentant un test ELISAc positif, les premiers et troisième quartiles correspondent à une valeur de titre de 86,7 % et 114,8 % respectivement (**figure 1**).

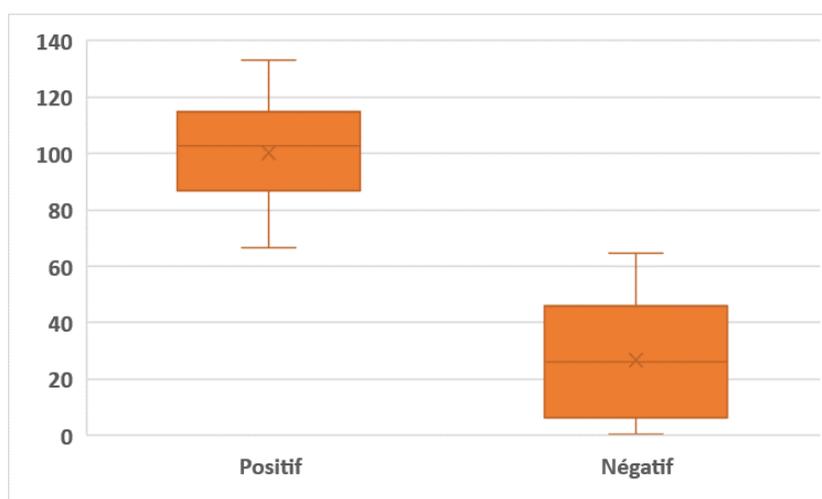


Figure 1. Titres obtenus (% calculé à partir des densités optiques obtenues par ELISA) par le LNR Brucellose, après réalisation d'un test ELISAc sur la période 2022-2024

Quelques valeurs extrêmes sont néanmoins très proches du seuil de positivité : un animal a présenté un titre à 64,5 % et un autre à 66,7 %, alors que le seuil est de 65 % (**figure 1**). Ceci montre la diversité des situations rencontrées et explique que certains animaux puissent avoir des résultats discordants (entre prélèvements) et soient retestés pour confirmer leur statut. Le

nombre d'animaux ayant eu plusieurs prélèvements successifs est limité, sachant que les animaux ayant présenté un résultat positif au test ELISAc ont été abattus.

2.2 Comparaison des résultats obtenus entre les départements 73 – 74 et le reste de la France

Les résultats obtenus dans les deux départements soumis à l'instruction technique DGAL/SDSSA/2023-146 ont été comparés à ceux observés dans les autres départements (instruction technique DGAL/SDSSA/2022-961). Les résultats observés (en 2022, 2023 et 2024) montrent que la proportion d'animaux positifs au test ELISAc est similaire dans les départements 73-74 (7/13) par rapport aux autres départements (20/46) et la comparaison des proportions n'est pas significative (test de Fisher, $p > 0,10$; **figure 2**). Ces données proviennent d'animaux qui ont été testés positifs au test à l'antigène tamponné et au test de fixation du complément.

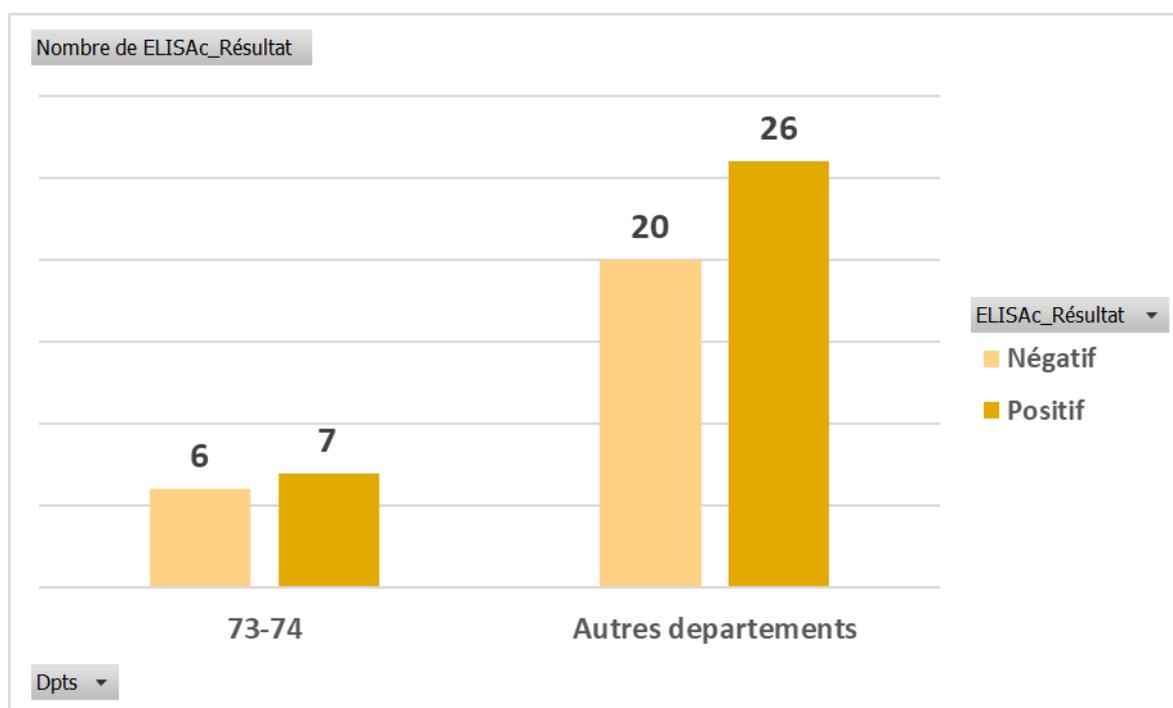


Figure 2. Nombre de résultats positifs et négatifs au test ELISA de confirmation réalisé dans les départements 73-74 versus dans les autres départements français en 2022, 2023 et 2024 (données LNR Brucelloses animales).

La comparaison des résultats obtenus chez les animaux issus de cheptels laitiers (animaux pour lesquels le LNR Brucellose a reçu des prélèvements de lait et de sérum) et allaitants (animaux pour lesquels le LNR Brucellose a reçu uniquement des sérums) montre une proportion d'animaux allaitants présentant un résultat positif à l'ELISAc (23/39) qui semble plus élevée que celle observée chez les animaux laitiers (10/20), mais cette différence n'est pas significative (test de Fisher, $p > 0,10$) (**figure 3**). A titre indicatif, la valeur prédictive négative observée est de 44 % (26/59). Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés dans le dossier de validation de l'ELISAc.

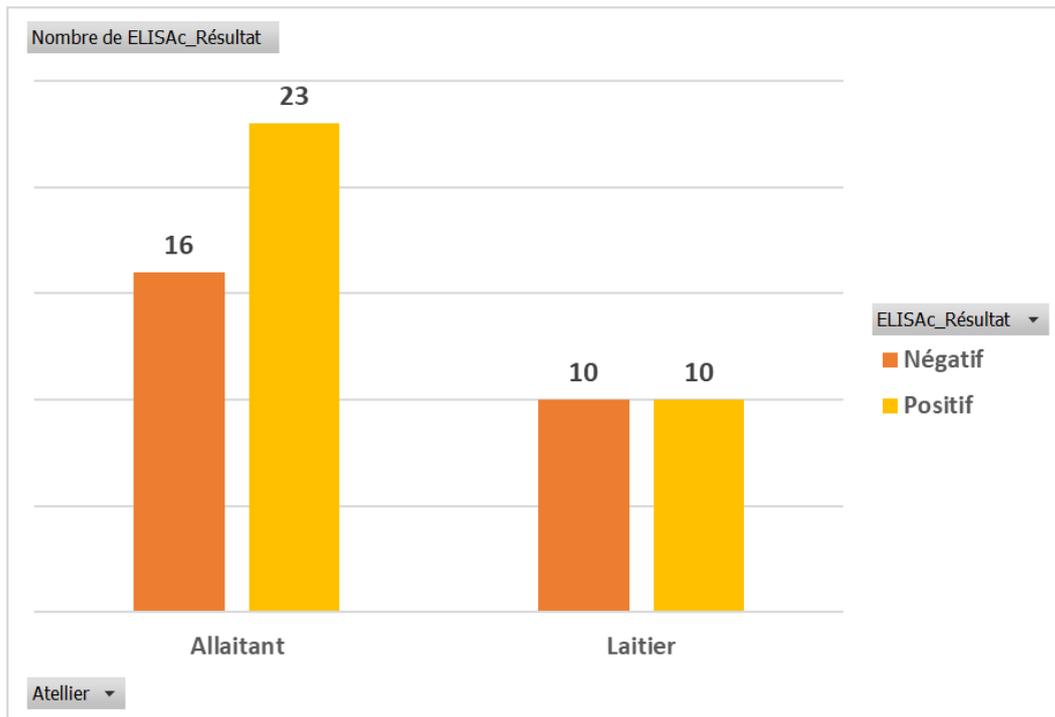


Figure 3. Nombre de résultats positifs et négatifs au test ELISA de confirmation observés dans les départements 73-74 versus dans les autres départements français (données LNR Brucelloses animales)

Conclusion : les résultats obtenus entre 2022 et 2024 pour l'ELISAc sont cohérents avec le seuil appliqué pour l'ELISAc (65%) et ne permettent pas de mettre en évidence de différence significative entre les départements 73-74, ni entre les élevages laitiers et allaitants.

3. ANALYSES ET CONCLUSIONS

3.1 Eléments d'interprétation relatifs au suivi des élevages bovins en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie

Une analyse comparée des logigrammes appliqués en cheptels laitiers et allaitants a été réalisée, afin d'harmoniser les protocoles appliqués en cas de résultat sérologique positif. En application de l'instruction technique 202-961, relative à la gestion de la brucellose dans les départements en dehors du Bary, le logigramme prévoit quatre dépistages successifs avant arrêté préfectoral d'infection (APDI), en cas de résultat sérologique positif en cheptel laitier et avant d'appliquer l'ELISA de confirmation :

- en cas d'enquête épidémiologique favorable, après 6 à 8 semaines, un test ELISA lait réalisé sur lait de mélange,
- en cas d'ELISA lait positif, un test de l'anneau (Ring Test) sur lait de mélange,
- immédiatement après arrêté préfectoral de mise sous surveillance (APMS), un test à l'antigène tamponné réalisé sur sérum individuel,

- un test de fixation du complément réalisé sur sérum individuel,
- après 3 à 6 semaines après l'APMS, un second test à l'antigène tamponné réalisé sur sérum individuel,
- un second test de fixation du complément réalisé sur sérum individuel.

En cheptel allaitant, après résultat sérologique positif et avant APDIMS, le logigramme utilise plusieurs dépistages successifs, avant d'appliquer l'ELISA de confirmation :

- un test à l'antigène tamponné réalisé sur sérum individuel,
- un test de fixation du complément,
- après 6 à 8 semaines, un deuxième test à l'antigène tamponné réalisé sur sérum individuel,
- un deuxième test de fixation du complément,
- après 3 à 6 semaines après l'APMS, un troisième test à l'antigène tamponné réalisé sur sérum individuel,
- un troisième test de fixation du complément.

Les schémas ci-après proposent d'appliquer l'ELISA de confirmation plus rapidement, à la fois dans les cheptels laitiers et allaitants, avant la prise de l'APMS, ce qui permettra de limiter le nombre d'élevages mis sous surveillance. Si au moins un des tests réalisés est positifs, l'APMS devra néanmoins être posé et une sérologie individuelle sur l'ensemble des animaux de plus de 24 mois devra être réalisée.

Après prise de l'arrêté de mise sous surveillance, le schéma propose de réaliser les tests sérologiques de dépistage (EAT ou ELISA individuel), puis de confirmation (fixation du complément) avant de faire l'ELISAc, ce qui permettra de réduire les nombres d'animaux soumis à abattage diagnostique. Néanmoins, la possibilité d'appliquer plus rapidement la mesure d'abattage diagnostique est ouverte si une procédure accélérée est souhaitable.

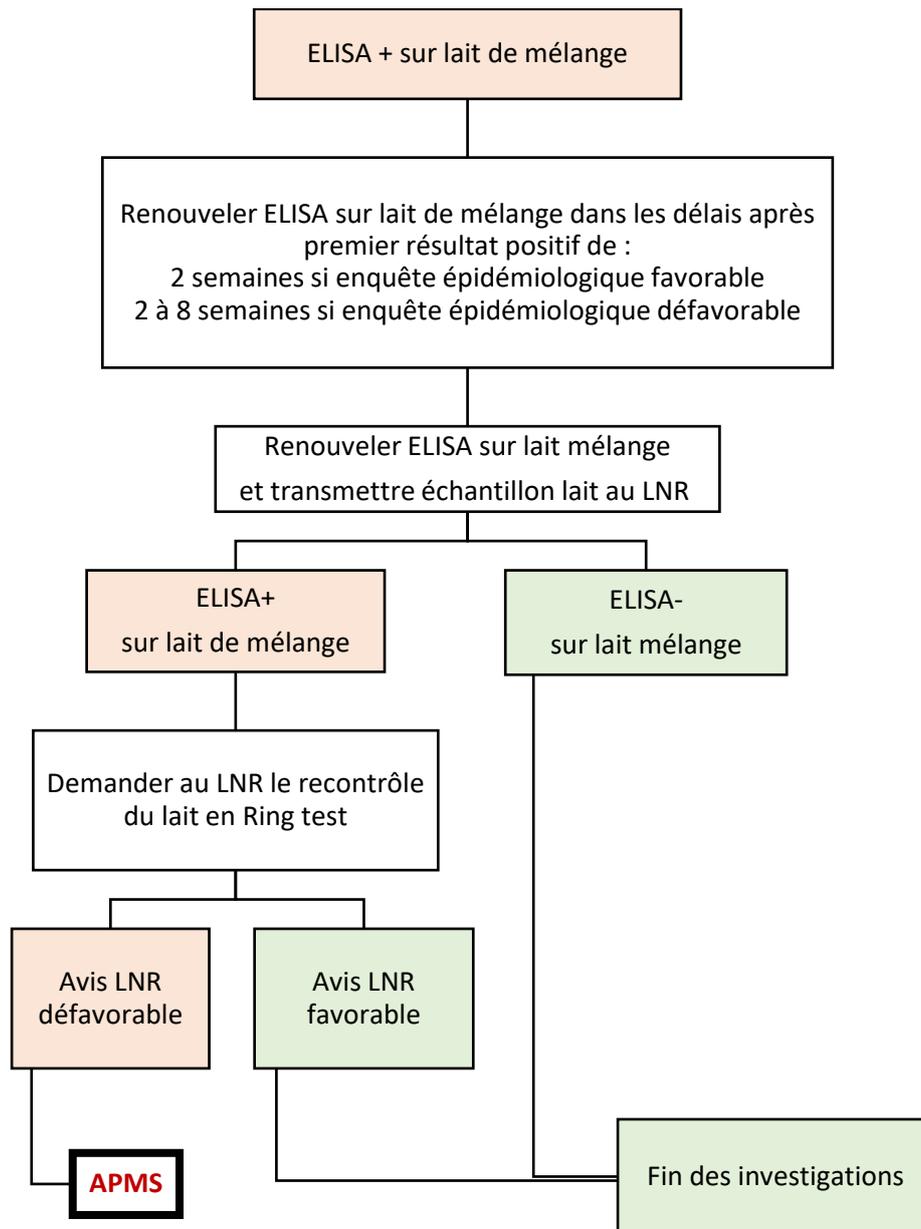


Figure 4. Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie dans un cheptel laitier (annexe 3) : changement de l'APMS après résultat du Ring-Test pour les enquêtes favorable et aussi défavorable.

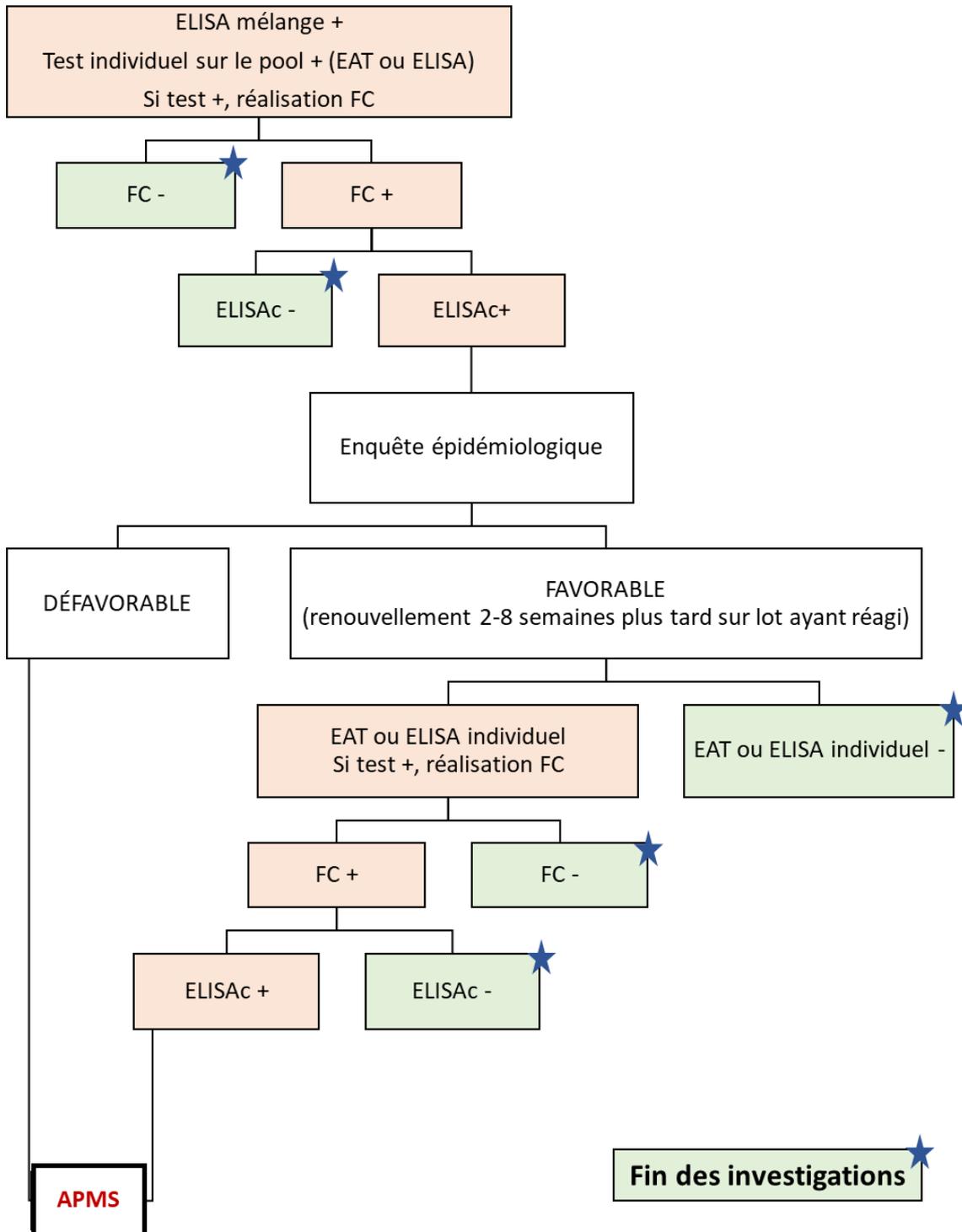


Figure 5. Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie dans un cheptel allaitant (annexe 4) : ajout de l'option ELISA individuel ou EAT et l'ELISAc après résultat positif FC.

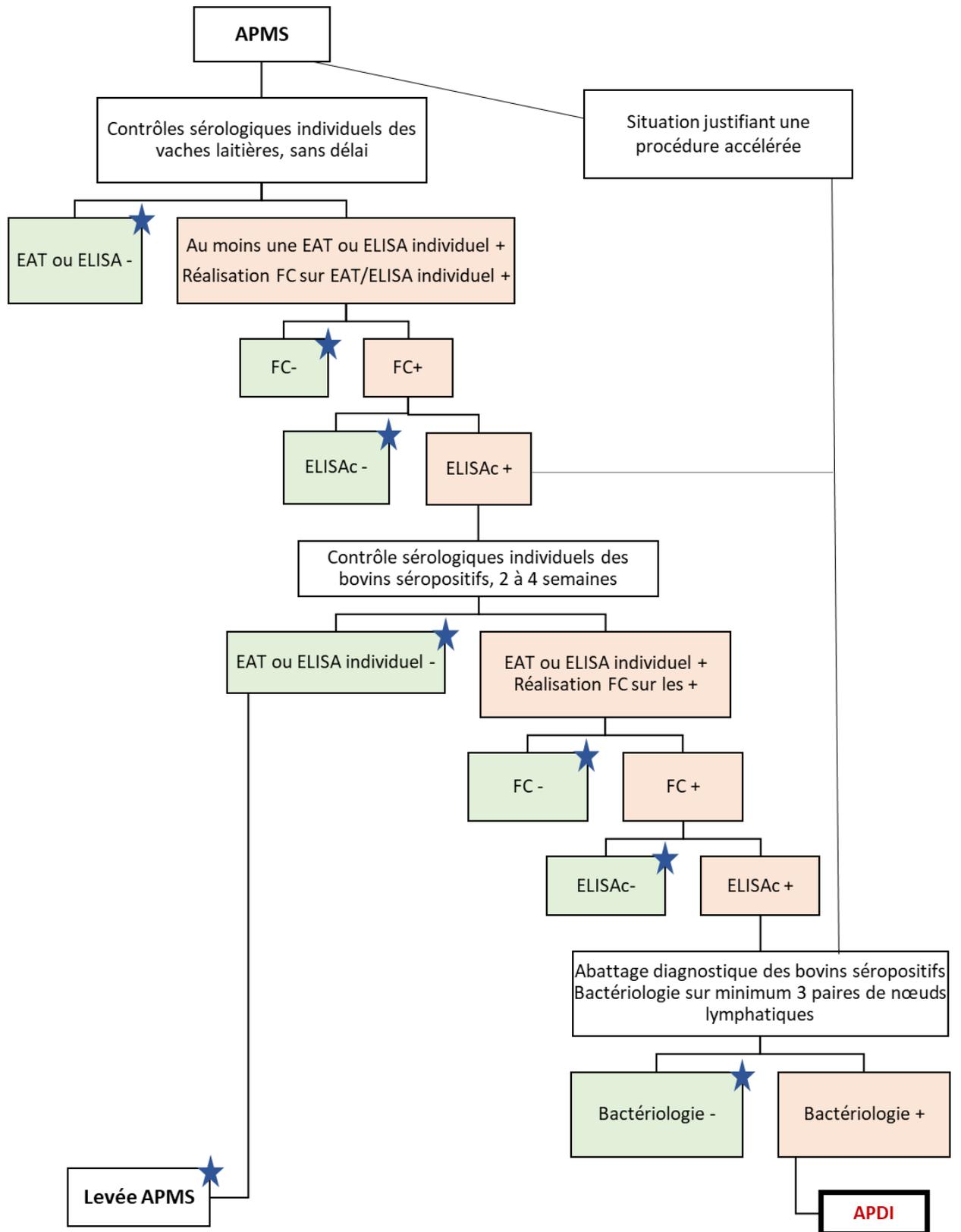


Figure 6. Conduite à tenir en cas d'APMS dans un cheptel laitier (annexe 5) : ajout de l'option ELISA individuel ou EAT et l'ELISAc après résultat positif FC. Changement du temps de recontrôle (2 à 4 semaines)

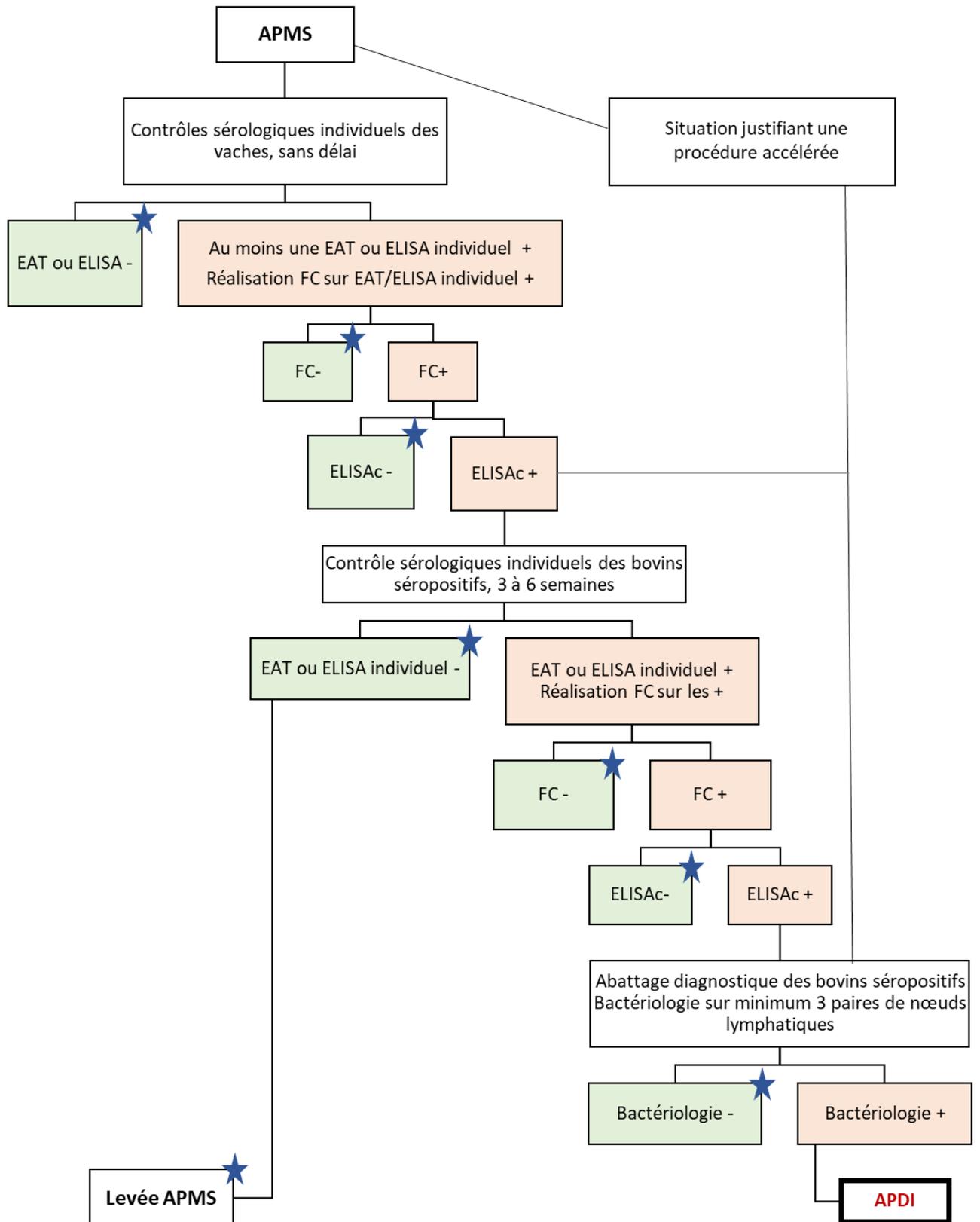


Figure 7. Conduite à tenir en cas d'APMS dans un cheptel allaitant (annexe 6) : ajout de l'option ELISA individuel ou EAT et l'ELISAc après résultat positif FC.

4. CONCLUSIONS

Les logigrammes proposés visent à utiliser davantage l'ELISA de confirmation dans le cadre de la surveillance de la brucellose bovine. L'analyse des résultats obtenus depuis la mise en œuvre du test ELISAc permet de conforter son utilisation. Un travail de comparaison entre filières laitières et allaitantes a été réalisé, avec l'objectif de combiner au mieux les tests sérologiques à disposition.

Pr Benoit VALLET

MOTS-CLÉS

Brucellose bovine, ELISA, surveillance, prophylaxie

[Se référer à des thésaurii – disponibles sur l'intranet documentation - pour sélectionner les mots clés pertinents, afin d'optimiser le référencement au moment de la publication. Contactez l'unité veille pour un appui si besoin est]

BIBLIOGRAPHIE

[voir les indications permettant de lister la bibliographie dans le modèle de rapport d'AST]

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2025). Note d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux « éléments nécessaires pour le traitement des suspicions en prophylaxies ». (saisine 2024-SA-0131). Maisons-Alfort : Anses, 12 p.

[Compléter en se référant au format recommandé de citation : typologie « rapport » dans le style Chicago 17 auteur-date. Contactez l'unité veille pour un appui]

(encadré à supprimer avant finalisation du document)

Procédure pour créer une annexe qui sera numérotée automatiquement et apparaîtra dans le sommaire

a) Méthode simple

Copier-coller une ligne de titre d'annexe existante puis ajouter un titre (+ MAJ du numéro d'annexe en tapant sur F9 ou clic droit sur le numéro et « Mettre à jour les champs »

ou b) Méthode expert

1) Dans « Références » cliquer sur « Insérer une légende »

2) Dans « étiquette » sélectionner le type « Annexe » puis cliquer sur OK

3) Taper le nom de l'annexe

4) Placer le curseur n'importe où sur le titre de l'annexe puis dans « Accueil » sélectionner le style « Style_Annexe »

Citer l'annexe dans le texte : même méthode que pour citer une figure ou un tableau : dans « Références » puis « Renvoi »