Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE,
DE LA RURALITE ET DE L'AMENAGEMENT DU TERRITOIRE

Direction générale de l'alimentation
Service de la prévention des risques sanitaires de la production primaire
Sous-direction de la santé et protection animales
Bureau de la santé animale

Adresse : 251 rue de Vaugirard - 75 732 PARIS CEDEX 15
Suivi par : - Tél : 01 49 55 84 57
Courriel institutionnel : bsa.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr
Réf. Interne : 1011040
MOD10.21 D 22/09/10
NOR : AGRG1029853N

NOTE DE SERVICE

DGAL/SDSPA/N2010-8321

Date: 24 novembre 2010

Date de mise en application :	Immédiate
Abroge et remplace :	-
Date d'expiration :	-
Date limite de réponse :	-
Nombre d'annexe :	1
Degré et période de confidentialité :	Tout public

Objet : Modification de la note DGAL/SDSPA 2010-8252 relative à la brucellose des bovinés

Références :
- Arrêté du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés ;
- Arrêté du 17 juin 2009 fixant les mesures financières relatives à la lutte contre la brucellose bovine et à la lutte contre la tuberculose bovine et caprine
- Arrêté du 16 août 2010 modifiant l'arrêté du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés
- Note de service DGAL/SDSPA/N2010-8252 du 31 août 2010 relative à la Brucellose des bovinés : application de l'arrêté du 22 avril 2008 révisé

Résumé :
La présente note apporte des modifications et des précisions à la note citée en référence. Elle précise notamment le schéma de qualification à appliquer en accord avec l'arrêté du 16 août 2010 et modifie l'annexe 4 (réalisation de sérologie EAT en cas d'ELISA+)

Mots-clés : bovinés – brucellose:

Destinataires	
Pour exécution :	**Pour information** :
DDPP/DDCSPP DSV	DRAAF - DRIAAF GDS France SNGTV ANSES INFOMA - ENSV - ENV CNIEL ADILVA FNPL FNB

La note DGAL/SDSPA 2010-8252 est modifiée comme suit de sorte à en améliorer l'exactitude et la clarté, une note consolidée est désormais disponible.

Partie I.B.

Techniquement les RLFP s'expliquent essentiellement par :

- les caractéristiques physicochimiques de la matrice : adiposité du lait qui peut nuire à la mise en œuvre correcte du test ;

- l'existence de communautés antigéniques aboutissant à des réactions croisées : principalement *Yersinia enterocolitica* O:9, secondairement *Escherichia coli* O157:H7, ~~Francisella tularensis~~ ou encore certaines salmonelles.

Pour pallier les situations résultant de ces RLFP, l'ANSES recommande pour les laboratoires :

- de vérifier les conditions de mise en œuvre des tests, notamment les étapes de lavage permettant de réduire le risque de souillures lipidiques des cupules ;

- de ne pas changer les seuils de positivité des tests ;

- de ne pas considérer les résultats douteux comme positifs.

Partie I. C.

Le principe de l'évolution réglementaire, dans la continuité de l'arrêté du 22 avril 2008 susvisé, est de considérer que les réactions sérologiques positives correspondent principalement à des réactions non spécifiques. Dans cette perspective, le statut des animaux ayant réagi est « en cours de détermination » et le statut de leur cheptel d'appartenance est maintenu. Les animaux doivent être recontrôlés afin que leur statut soit déterminé sans ambiguïté, dans un délai dicté par une évaluation de la situation épidémiologique du cheptel. En l'absence de manifestations cliniques de brucellose, ou si des avortements déclarés ont fait l'objet d'investigations avec résultat favorable à l'égard de la brucellose, et sous réserve du respect des règles sanitaires en vigueur, le délai de recontrôle peut être porté à 6 à 8 semaines (moins de 60 jours) de sorte à augmenter la probabilité que les réactions sérologiques croisées avec d'autres pathogènes s'atténuent. Dans le cas contraire, la brucellose ne peut être écartée et le délai de recontrôle doit être réduit à 15 jours au plus.

Partie I.D.

- A l'introduction d'animaux infectés à partir de zones d'enzootie (notamment pays méditerranéens, Irlande du Nord, ~~République d'Irlande~~) ;

- A l'infection des bovinés par *Brucella suis* à partir de la faune sauvage (sangliers) ou à partir de porcs élevés en plein air qui auraient été contaminés par la faune sauvage (chaque année plusieurs foyers de brucellose porcine sont déclarés en élevage de plein air).

Le maintien du statut officiellement indemne de la France vis-à-vis de la brucellose est conditionné par l'absence de foyer durant les 3 années précédentes et un taux de cheptels officiellement indemnes supérieur à 99,8% au 31 décembre de chaque année. En cas de foyer, la France perdrait donc son statut, à moins qu'il soit possible de prouver qu'il s'agit d'un incident isolé dû à l'introduction d'animaux provenant de l'extérieur du pays, et qu'un abattage total soit mis en oeuvre (directive 64/432/CEE du Conseil).

Partie II.A

- <u>ELISA indirect (iELISA) sur mélange de lait :</u> cette épreuve est la plus spécifique et la plus sensible des méthodes de dépistage de la brucellose sur le lait. Les rares réactions faussement positives dans cette méthode disparaissent très généralement sur un prélèvement réalisé 15 jours à plusieurs semaines plus tard, en fonction du contexte épidémiologique.

Partie II. C

Les annexes 3 et 4 présentent les schémas décisionnels qui s'appliquent en cas de résultats sérologiques positifs en prophylaxie, respectivement en cheptel laitier et en cheptel allaitant, allant du résultat positif à la mise éventuelle sous APMS. Dans le cas des cheptels allaitants, en cas d'obtention d'un résultat positif à l'ELISA de mélange, le résultat doit être d'abord confirmé par EAT avant la réalisation d'une FC (annexe 4).

Enquête épidémiologique

Dans l'attente d'un cadre d'investigation épidémiologique standardisé reposant sur des critères objectifs, les éléments suivants doivent être pris en compte pour l'évaluation de la situation de l'élevage.

- Avortements en série n'ayant pas fait l'objet d'investigation vis-à-vis de la brucellose ;
- Introduction de bovinés, ovins, ou caprins en provenance d'une zone d'enzootie (notamment pays méditerranéens, Irlande du Nord, ~~République d'Irlande~~), ou lien avec un troupeau ayant introduit de tels animaux ;
- Respect des règles sanitaires relatives à l'introduction des animaux relevant du classement d'exploitation à risque ou du non respect des délais de mouvements ;
- Respect des conditions de réalisation des prophylaxies vis-à-vis de la brucellose ;
- Exposition à des porcs en plein air ou à des sangliers.

APDI : Dans tous les cas conduisant à un isolement de Brucella, la DGAl doit être avertie afin de coordonner la mise en place d'une enquête épidémiologique approfondie destinée notamment à déterminer l'origine de l'infection.

Partie II. E

~~l'acquisition de la qualification « officiellement indemne de brucellose » est obtenue après la réalisation, avec résultats favorables, de 2 épreuves à l'antigène tamponné (EAT) pratiquées sur l'ensemble des bovins de plus de 12 mois, à intervalle de 3 à 12 mois.~~

L'acquisition de la qualification « officiellement indemne de brucellose » est obtenue après la réalisation, avec résultats favorables, de 2 épreuves sérologiques effectuées à un intervalle de soixante jours et réalisés dans les conditions du point 1 du II de l'article 15.

Annexe 4

Annexe 4 : Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie cheptel allaitant

Le résultat conduisant à la réalisation de FC est EAT+ (éventuellement après ELISA+).

Annexe 7

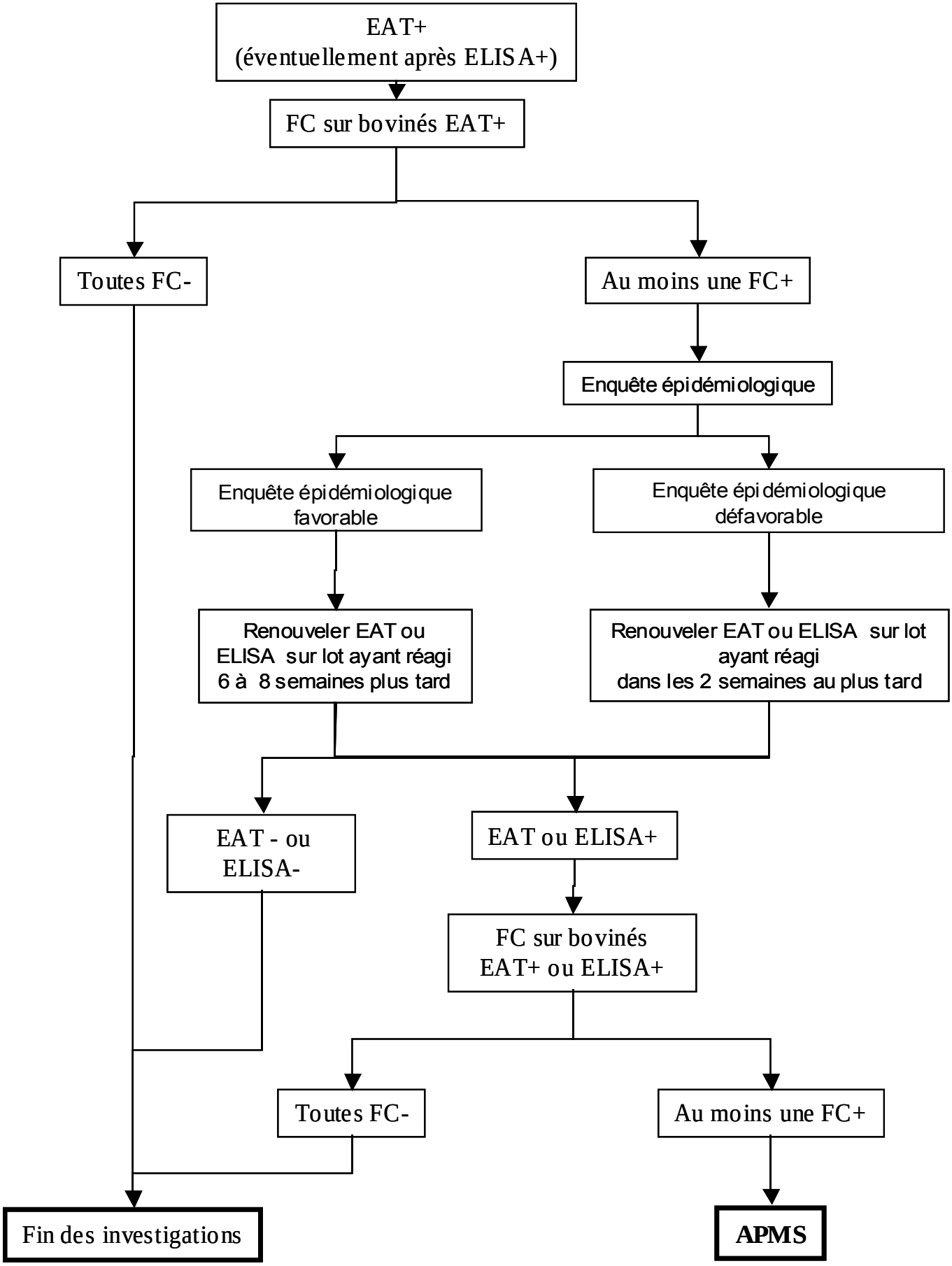
Il est rappelé que les écouvillons doivent être réalisés avant les traitements antibiotiques ou anti-infectieux et les les références à l'Afssa sont remplacées par celles à l'Anses.,

Vous voudrez bien me faire part des éventuelles difficultés rencontrées dans leur application.

L'adjoint à la sous-directrice
de la santé et de la protection animales

Yves DOUZAL

Annexe 4 : Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie cheptel allaitant



ORDRE DE METHODE

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'ALIMENTATION, DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE

Direction générale de l'alimentation **Service de la prévention des risques sanitaires de la production primaire** **Sous-direction de la santé et protection animales** **Bureau de la santé animale** Adresse : 251 rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15 Suivi par : A. Fediaevsky Tél : 01 49 55 84 57 Courriel institutionnel : bsa.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr **NOR :** Réf. Interne : 1011040 MOD10.21 D 22/09/10	**Note de service** **N° : DGAL/SDSPA/N2010-8252** **Date : 31 août 2010**

Modifiée par
– Note de service DGAL/SDSPA/N2010-DGAL/SDSPA/N2010-8321

Date de mise en application :	Immédiate
Abroge et remplace :	NOTE DE SERVICEDGAL/SDSPA/N° 2008-8242 du 16/09/2008
Date d'expiration :	...
Date limite de réponse :	...
Nombre d'annexes :	7
Degré et période de confidentialité :	...

Objet : Brucellose des bovinés : application de l'arrêté du 22 avril 2008 révisé

Références :
- Arrêté du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés ;
- Arrêté du 17 juin 2009 fixant les mesures financières relatives à la lutte contre la brucellose bovine et à la lutte contre la tuberculose bovine et caprine
- Arrêté du 16 août 2010 modifiant l'arrêté du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés

Résumé : La présente note de service précise les modalités d'application de l'arrêté révisé du 22 avril 2008 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la brucellose des bovinés. La note précise notamment quels diagrammes décisionnels s'appliquent en cas de test sérologique positif et en cas d'avortement.

Mots-clés : bovinés - brucellose

Destinataires		
Pour exécution :		**Pour information** :
☒ DDPP/DDCSPP :		DRAAF - DRIAAF
☒ DSV :		GDS France
☐ DAF :		SNGTV
☐ DRAAF :		ANSES
☐ DDTM :		INFOMA
☐ SIVEP :		ENSV - ENV
		CNIEL
		ADILVA
		FNPL
		FNB

I - Contexte

A - - Situation de la France vis à vis de la brucellose

La France est officiellement indemne de brucellose depuis 2005. Aucun cas n'a été recensé sur des bovins depuis 2003. Dans ce contexte, les réactions sérologiques positives obtenues lors des dépistages annuels correspondent à des réactions non spécifiques. Toutefois, la réapparition de la brucellose bovine en France ne peut pas être exclue et il convient de rester vigilant. La principale manifestation de la brucellose dans une population de bovins naïfs consiste en des séries d'avortements. Par conséquent, la surveillance clinique constitue le dispositif de choix pour une détection précoce de la maladie. Dans l'éventualité d'une réapparition de la maladie et d'une carence du dispositif de surveillance clinique, les résultats sérologiques positifs permettraient de détecter la maladie. Il convient donc de conduire les investigations appropriées, épidémiologiques notamment, pour déterminer sans ambiguïté le statut des animaux réagissants. Cependant, compte tenu du contexte favorable et du défaut de spécificité inhérent à toutes les méthodes de dépistages sérologiques disponibles, chaque année un certain nombre d'exploitations se trouvent en situation de suspension de qualification.

B - Réactions sérologiques sur lait faussement positives

Dans son avis en date du 16/10/2009 faisant suite à la saisine n°2009-SA-0110 relatif au test ELISA sur lait de mélange pour le dépistage de la brucellose bovine, l'ANSES a analysé les circonstances conduisant à la détection d'un nombre élevé de réactions sérologiques sur le lait de mélange faussement positives (RLFP) analysé par le test ELISA. Les nombreuses RLFP observées s'expliquent par le nombre élevé de tests réalisés en dépit d'une spécificité individuelle très élevée du test (proche de 99,5%). Techniquement les RLFP s'expliquent essentiellement par :

- les caractéristiques physicochimiques de la matrice : adiposité du lait qui peut nuire à la mise en œuvre correcte du test ;
- l'existence de communautés antigéniques aboutissant à des réactions croisées : principalement *Yersinia enterocolitica* O: 9, secondairement *Escherichia coli* O 157:H7, ~~Francisella tularensis~~ ou encore certaines salmonelles.

Pour pallier les situations résultant de ces RLFP, l'ANSES recommande pour les laboratoires :

- de vérifier les conditions de mise en œuvre des tests, notamment les étapes de lavage permettant de réduire le risque de souillures lipidiques des cupules ;
- de ne pas changer les seuils de positivité des tests ;
- de ne pas considérer les résultats douteux comme positifs.

L'ANSES propose également d'expertiser les échantillons de laits positifs en seconde analyse par une autre méthode analytique comme le Ring-Test (Epreuve de l'anneau) qui serait, dans ce cadre, utilisé à titre expérimental.

Par ailleurs, sur la base des recommandations de l'ANSES, les arbres décisionnels sont modifiés. La problématique des réactions faussement positives n'étant pas spécifique à la filière lait, les modifications portent également sur la filière allaitante.

C - Principes de l'évolution réglementaire

Le principe de l'évolution réglementaire, dans la continuité de l'arrêté du 22 avril 2008 sus-visé, est de considérer que les réactions sérologiques positives correspondent principalement à des réactions non spécifiques. Dans cette perspective, le statut des animaux ayant réagi est « en cours de détermination » et le statut de leur cheptel d'appartenance est maintenu. Les animaux doivent être recontrôlés afin que leur statut soit déterminé sans ambiguïté, dans un délai dicté par une évaluation de la situation épidémiologique du cheptel. En l'absence de manifestations cliniques de brucellose, ou si des avortements déclarés ont fait l'objet d'investigations avec résultat favorable à l'égard de la brucellose, et sous réserve du respect des règles sanitaires en vigueur, le délai de recontrôle peut être porté à 6 à 8 semaines (moins de 60 jours) de sorte à augmenter la probabilité que les réactions sérologiques croisées avec d'autres pathogènes s'atténuent. Dans le cas contraire, la brucellose ne peut être écartée et le délai de recontrôle doit être réduit à 15 jours au plus.
Cette évolution permet donc un assouplissement des conditions de maintien de qualification sous réserve d'un respect de la surveillance clinique (avortement) et des contrôles sérologiques réglementaires.

Par ailleurs, dans l'éventualité où la brucelline serait à nouveau disponible, le recours à l'ECA permettrait d'obtenir rapidement des résultats plus spécifiques en vu de la détermination sans ambiguïté du statut des animaux ayant réagi aux tests sérologiques.
Dans le cadre de l'investigation des avortements, la bactériologie n'est plus systématique mais est mise en œuvre uniquement en cas d'obtention de résultats sérologiques positifs (EAT+ (ou ELISA+) et FC+). Le prélèvement est réalisé à partir d'un écouvillon du col, dans les conditions des annexes 2 et 7. L'écouvillon du col est réalisé en même temps que la prise de sang pour la sérologie, ou bien de manière différée si la sérologie est positive et si certaines conditions sont respectées :

- Ecouvillon réalisé dans les 15 jours suivant l'avortement (au delà, l'excrétion des *Brucella* diminue)

- Ecouvillon réalisé avant tout traitement antibiotique (oblets) pour ne pas inhiber la culture bactérienne

Si ces conditions ne peuvent pas être respectées, ou si la suspicion de brucellose est forte, alors l'écouvillon doit être réalisé en même temps que la prise de sang. Cela, d'autant plus qu'une autre analyse entrant dans le diagnostic différentiel des avortements peut être demandée à la charge de l'éleveur à partir de ce prélèvement.
En cas d'infection, l'abattage total reste la règle systématique si l'infection est due à *B. abortus* ou *B. melitensis* puisqu'il représente la manière la plus efficace d'assainir un troupeau et d'éviter la diffusion de l'infection. Cette règle vaut également dans le cas des troupeaux de races d'intérêt local. Conformément à la directive 64/432, l'abattage total d'un troupeau infecté est en effet une des conditions du maintien du statut officiellement indemne de brucellose bovine de la France. Dans le cas d'infection par une autre souche de Brucella, l'abattage partiel peut être envisagé avec l'accord de la DGAl.

D - Risque de réapparition de foyers de brucellose des bovinés en France

Le risque de réapparition de foyers de brucellose chez des bovinés en France est particulièrement faible, mais il doit être pris en compte. Il est lié :

- A l'introduction d'animaux infectés à partir de zones d'enzootie (notamment pays méditerranéens, Irlande du Nord, ~~République d'Irlande~~) ;

- A l'infection des bovinés par *Brucella suis* à partir de la faune sauvage (sangliers) ou à partir de porcs élevés en plein air qui auraient été contaminés par la faune sauvage (chaque année plusieurs foyers de brucellose porcine sont déclarés en élevage de plein air).

Le maintien du statut officiellement indemne de la France vis-à-vis de la brucellose est conditionné par l'absence de foyer durant les 3 années précédentes et un taux de cheptels officiellement indemnes supérieur à 99,8% au 31 décembre de chaque année. En cas de foyer, la France perdrait donc son statut, à moins qu'il soit possible de prouver qu'il s'agit d'un incident isolé dû à l'introduction d'animaux provenant de l'extérieur du pays, et qu'un abattage total soit mis en oeuvre (directive 64/432/CEE du Conseil).

II - Dispositions pratiques

A - Les différents tests sérologiques de dépistage de la brucellose et leurs caractéristiques – Réactions sérologiques faussement positives

Les tests de dépistage sérologique de la brucellose bovine actuellement reconnus en France sont les suivants :

- Epreuve à l'antigène tamponné (EAT ou Rose-Bengale) : cette épreuve est très sensible et détecte généralement les anticorps induits dans les premiers stades de l'infection (IgM surtout et IgG). Elle manque en revanche de spécificité.

- Epreuve de fixation du complément (FC) : cette épreuve est un peu moins sensible que l'EAT et détecte généralement les anticorps induits par une infection de plus longue date (IgG principalement). Elle est plus spécifique que l'EAT.

- ELISA indirect (iELISA) sur sérum individuel : cette épreuve est la plus sensible actuellement disponible. Elle présente, à l'inverse, la plus faible spécificité. Lors de résultat non négatif celui-ci doit dans tous les cas être confirmé par la FC.

- ELISA indirect (iELISA) sur mélange de 10 sérums individuels : cette épreuve est plus spécifique que la précédente tout en conservant une excellente sensibilité cheptel.

- ELISA indirect (iELISA) sur mélange de lait : cette épreuve est la plus spécifique et la plus sensible des méthodes de dépistage de la brucellose sur le lait. Les rares réactions faussement positives dans cette méthode disparaissent très généralement sur un prélèvement réalisé 15 jours à plusieurs semaines plus tard, en fonction du contexte épidémiologique.

Toutes les épreuves de dépistage sérologique de la brucellose bovine sur sérum sanguin souffrent d'un manque de spécificité et sont ainsi susceptibles d'entraîner des **réactions sérologiques faussement positives** (RSFP – anciennement dénommées « réactions atypiques »). Elles ont donc une valeur prédictive positive particulièrement faible aujourd'hui (zone indemne). La plupart de ces RSFP ont été identifiées comme étant en lien avec une infection préalable des animaux concernés par une bactérie présentant des antigènes communs avec les *Brucella*, principalement *Yersinia enterocolitica* O :9.

Les caractéristiques générales de ces RSFP sont les suivantes :

- Elles concernent un **faible nombre d'animaux** dans l'élevage (1-2 dans 80% des cas) ;
- Elles concernent surtout les **jeunes animaux** ;
- Les **titres sérologiques sont globalement faibles** ;
- Il existe une tendance à la **négativation rapide** (< 2 mois dans 85% des cas) ;
- Les **anticorps** ont tendance à être **labiles** (résultats parfois peu reproductibles sur un même échantillon) ;
- Le **taux de discordance** est élevé entre les différents tests (notamment entre l'iELISA sur mélange de 10 sérums et l'EAT individuelle sur les sérums composant le mélange)
- Elles concernent très souvent l'iELISA individuel et plus souvent l'EAT que la FC ;
- Le taux de cheptels à RSFP peut **varier** considérablement d'une région à l'autre et, dans une même région, d'une année sur l'autre ;
- Dans de rares cas (plusieurs cas chaque année, néanmoins) les caractéristiques des RSFP peuvent différer de celles décrites ci-dessus avec parfois un nombre d'animaux concerné important, y compris des animaux plus âgés, des titres sérologiques élevés et parfois durables, rendant difficile le diagnostic différentiel avec l'infection brucellique. Parfois seuls la FC et/ou l'iELISA sont concernés, l'EAT restant négative.
- L'épreuve cutanée allergique à la Brucelline est, quant à elle, une méthode diagnostique aussi sensible que les méthodes sérologiques mais présente une spécificité très largement supérieure, d'où son intérêt (lorsqu'elle est disponible) pour le diagnostic différentiel des RSFP.

B - Définitions

- Un tableau récapitulatif des définitions relatives aux bovinés et aux troupeaux de bovinés, et précisant la correspondance entre le statut d'un boviné et de son troupeau est fourni à l'annexe 1.
- La définition d'un avortement est donnée à l'article R.223-79 du Code rural : « Est considéré comme un avortement l'expulsion du fœtus ou du veau, soit né mort, soit succombant dans les quarante-huit heures après la naissance ».

C - Diagrammes décisionnels s'appliquant

L'annexe 2 indique le diagramme décisionnel qui s'applique en cas d'avortement.

Les annexes 3 et 4 présentent les schémas décisionnels qui s'appliquent en cas de résultats sérologiques positifs en prophylaxie, respectivement en cheptel laitier et en cheptel allaitant, allant du résultat positif à la mise éventuelle sous APMS. Dans le cas des cheptels allaitants, en cas d'obtention d'un résultat positif à l'ELISA de mélange, le résultat doit être d'abord confirmé par EAT avant la réalisation d'une FC (annexe 4).

Les annexes 5 et 6 présentent les schémas décisionnels qui s'appliquent en cas d'APMS, respectivement dans le cas où de la brucelline est disponible et celui où elle n'est pas disponible, que le cheptel soit allaitant ou laitier.

Quelques précisions peuvent être apportées concernant ces diagrammes :

Enquête épidémiologique
Dans l'attente d'un cadre d'investigation épidémiologique standardisé reposant sur des critères objectifs, les éléments suivants doivent être pris en compte pour l'évaluation de la situation de l'élevage.

- Avortements en série n'ayant pas fait l'objet d'investigation vis-à-vis de la brucellose ;
- Introduction de bovinés, ovins, ou caprins en provenance d'une zone d'enzootie (notamment pays méditerranéens, Irlande du Nord, ~~République d'Irlande~~), ou lien avec un troupeau ayant introduit de tels animaux ;
- Respect des règles sanitaires relatives à l'introduction des animaux relevant du classement d'exploitation à risque ou du non respect des délais de mouvements ;
- Respect des conditions de réalisation des prophylaxies vis-à-vis de la brucellose ;
- Exposition à des porcs en plein air ou à des sangliers.

Lorsqu'ils sont disponibles, les bilans de reproduction et notamment les intervalles vêlage-vêlage anormalement longs peuvent être utilisés comme des indicateurs de la présence d'avortements. Toutefois aucun critère standardisé n'est encore défini. Cet indicateur doit donc être utilisé avec prudence.

Abattages diagnostiques
La bactériologie doit être réalisée individuellement sur au moins 3 paires de noeuds lymphatiques. Les 3 paires de noeuds lymphatiques à tester sont les NL rétro-pharyngiens, les NL rétro-mammaires (inguinaux chez les mâles) et les NL génitaux (par exemple porter un ganglion iliaque externe et un ganglion iliaque interne).

Bactériologie sur lait : Elle doit être individuelle.

Epreuve cutanée allergique

- Disponibilité : Le laboratoire Synbiotics souhaite mettre à nouveau de la brucelline sur le marché, sans qu'on puisse connaître une date précise de disponibilité. Dans l'attente les diagrammes tenant compte de l'absence du produit peuvent être utilisés.
- Injection : Le pli de peau doit être mesuré **à l'aide d'un cutimètre** avant l'injection. Le lieu d'injection est situé à l'union du tiers moyen et du tiers postérieur d'une face de l'encolure, à égale distance des bords supérieur et inférieur de celle-ci. Il convient de repérer le lieu d'injection (tonte). 0,1 mL de produit doivent être injectés **par voie intradermique stricte**.
- L'épreuve cutanée allergique ne doit pas être pratiquée en même temps qu'une tuberculination, pour éviter toute interférence. Par ailleurs un délai de 6 semaines entre 2 épreuves cutanées allergiques doit être respecté.
- Lecture et interprétation des résultats : Le résultat doit être lu le 3ème jour **au plus tôt** (après 72 heures), en mesurant le pli de peau au cutimètre. L'interprétation des résultats est la suivante :
  - Réaction négative : épaississement inférieur à 2 mm
  - Réaction positive : épaississement supérieur ou égal à 2 mm

APDI : Dans tous les cas conduisant à un isolement de Brucella, la DGAl doit être avertie afin de coordonner la mise en place d'une enquête épidémiologique approfondie destinée notamment à déterminer l'origine de l'infection.

D - Prophylaxie de la brucellose des bovinés

L'arrêté du 22 avril 2008 ne prévoit pas de modification concernant les prophylaxies de routine, les règles de dépistage restant les mêmes : contrôle annuel du lait de mélange en cheptel laitier et contrôle sérologique annuel de 20 % des bovins de plus de 24 mois dans les cheptels allaitants. Les modalités de dépistage sont précisées dans la note de service DGAL/SDSPA/N2005-8251 du 8 novembre 2005.

E - Acquisition de la qualification « officiellement indemne de brucellose »

dans certains cas particuliers

Dans le cas particulier :

- des troupeaux dont la qualification a été retirée pour des raisons administratives conformément au point III de l'article 16 de l'arrêté du 22 avril 2008 ;

- des troupeaux bénéficiant de la dérogation relative aux troupeaux bovins d'engraissement conformément aux articles 17 et 18 de l'arrêté du 22 avril 2008 (ASDA jaunes), et pour lesquels la dérogation n'est pas maintenue (attribution d'ASDA vertes), sur demande de l'exploitant ou en cas de retrait par le DDPP (ou DDCSPP) ;

L'acquisition de la qualification « officiellement indemne de brucellose » est obtenue après la réalisation, avec résultats favorables, de 2 épreuves sérologiques effectuées à un intervalle de soixante jours et réalisés dans les conditions du point 1 du II de l'article 15.

F - Aspects financiers

L'arrêté du 17 juin 2009 sus-visé prévoit la prise en charge financière par l'Etat des opérations techniques de police sanitaire prises en application des articles 13, 23, 24, 25 et 27 de l'arrêté du 22 avril 2008 sus-visé.

Toutefois, les mesures prescrites par le directeur en charge de la protection des populations dans le cas de la détermination sans ambiguïté du statut d'animaux en cours de détermination à la suite de résultats sérologiques positifs ne relèvent pas à proprement parler de la police sanitaire mais sont effectuées dans le cadre du maintien de qualification des cheptels et, à ce titre, sont à prendre en charge par l'éleveur. Il convient à ce propos de préciser que les évolutions réglementaires sont faites au bénéfice des éleveurs dans la mesure où les conditions de maintien de qualification sont assouplies.

Concernant les enquêtes épidémiologiques, les DD(CS)PP ont le choix de les réaliser elles-mêmes ou d'en confier la réalisation aux vétérinaires sanitaires, avec une prise en charge par l'Etat.

Je vous invite à communiquer ces instructions aux acteurs concernés de votre département (vétérinaires sanitaires, Laboratoires Vétérinaires Départementaux, Groupements de Défense Sanitaire). Vous voudrez bien me faire part des éventuelles difficultés rencontrées dans leur application.

Le Directeur Général Adjoint

Chef du service de la coordination des actions sanitaires

CVO

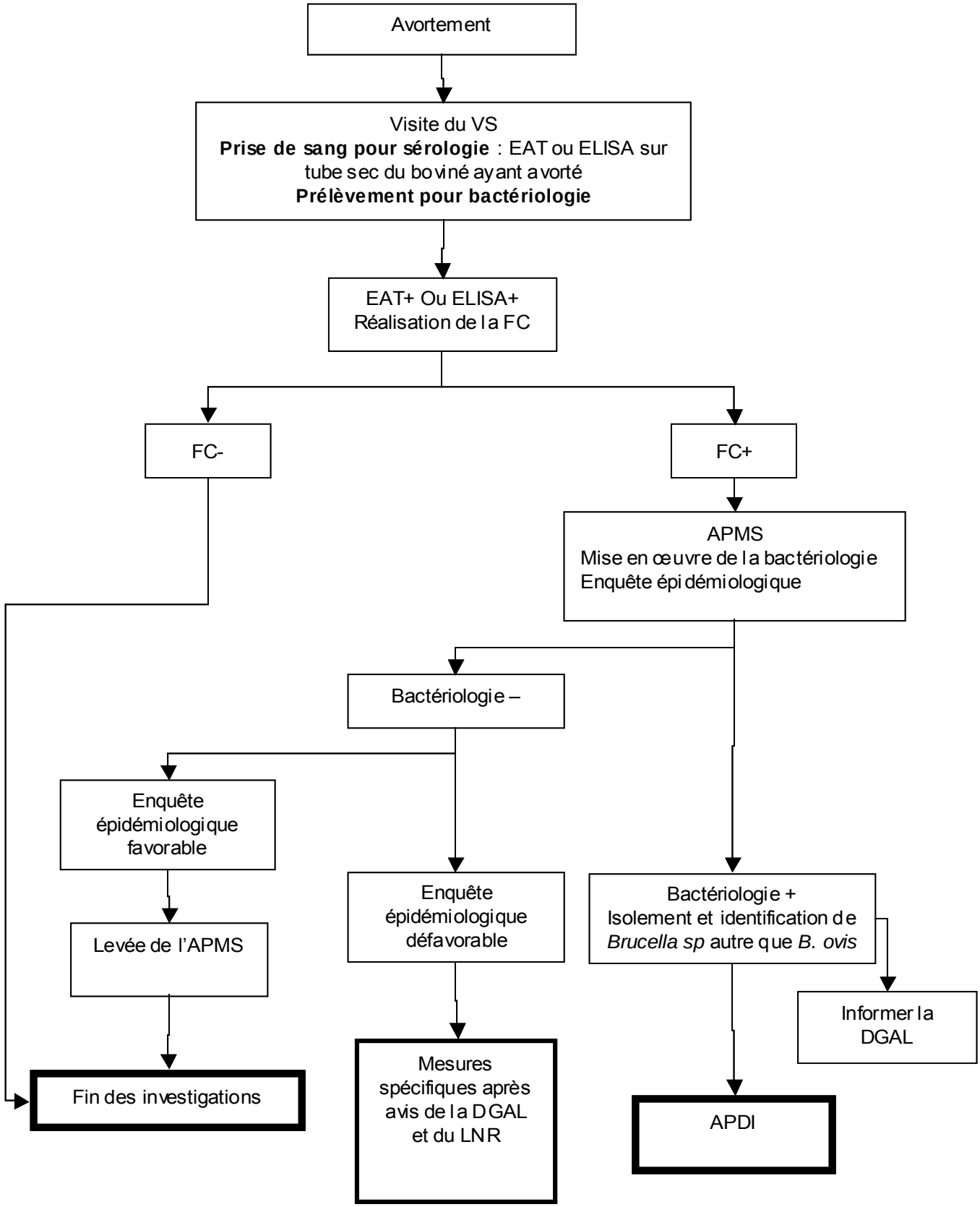
Jean-Luc ANGOT

Annexe 1 : Récapitulatif des définitions relatives aux bovinés et aux troupeaux de bovinés concernant la brucellose

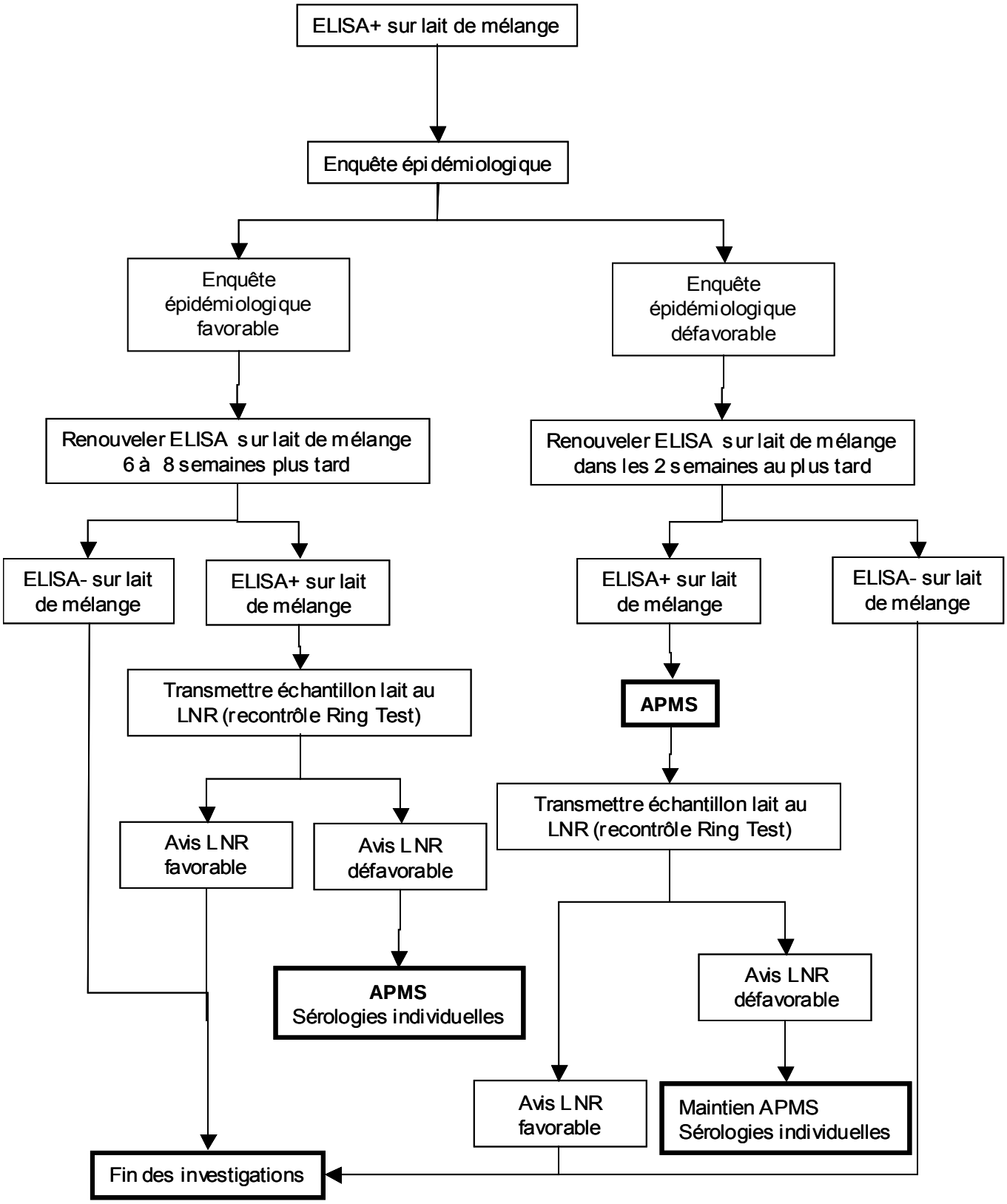
Statut du bovin	Raison	Statut des autres bovinés du troupeau en conséquence	Statut correspondant du troupeau	Mesures dans le troupeau
Indemne de brucellose	Le bovin appartient à un troupeau officiellement indemne de brucellose, il n'a pas avorté et présente des résultats sérologiques individuels favorables.	Indemnes	**Officiellement indemne**	/
Suspect d'être infecté de brucellose	Sans appartenir à un troupeau infecté, le bovin est dans l'une des situations suivantes : – A avorté et présente un résultat sérologique sanguin EAT ou ELISA et FC positif ; – A obtenu des résultats positifs en ECA ; – A obtenu deux résultats sérologiques positifs obtenus à partir d'échantillons prélevés à intervalle de soixante jours au plus	Statut en cours de confirmation	**Suspect**	**APMS** et suspension de qualification **Investigations** visant à préciser le statut du troupeau (art 23)
Infecté de brucellose	Le bovin est dans l'une des situations suivantes : – Isolement et identification de *Brucella sp.* autres que *B. ovis ;* – Appartenant à un troupeau infecté de brucellose, il a présenté un résultat sérologique sanguin positif ou une ECA positive ;	Infectés ou contaminés	**Infecté**	**APDI** et retrait de qualification (art 27 à 32)
Contaminé de brucellose	Appartenant à un troupeau infecté de brucellose, le bovin ne peut pas être considéré comme infecté d'après les critères ci-dessus.	Infectés ou contaminés	**Infecté**	**APDI** et retrait de qualification (art 27 à 32)
Statut en cours de confirmation vis-à-vis de la brucellose	Le bovin est non indemne de brucellose car dans l'une des situations suivantes : • Il a présenté un résultat sérologique non négatif (positif ou douteux) (1) ; • Il a avorté (1) ; • Il appartient à un troupeau suspect d'être infecté (2) ; • Il appartient à un troupeau susceptible d'être infecté (3) ; et ne répond pas à la définition de bovin suspect, infecté ou contaminé d'après les critères ci-dessus.	Cas (1) Statut en cours de confirmation ou indemnes	**Officiellement indemne**	**Investigations** visant à préciser le statut du troupeau (art 25)
		Cas (2) Suspects ou de statut en cours de confirmation	**Suspect**	**APMS** et suspension de qualification **Investigations** visant à préciser le statut du troupeau (art 23)
		Cas (3) Statut en cours de confirmation	**Susceptible** d'être infecté	**APMS** et suspension de qualification possibles **Investigations** visant à préciser le statut du troupeau (art 24)

NB : Le statut officiellement indemne de brucellose d'un troupeau de bovinés peut également être suspendu ou retiré pour des raisons administratives sur décision du DDecPP conformément au point III de l'article 16 de l'arrêté du 22 avril 2008.

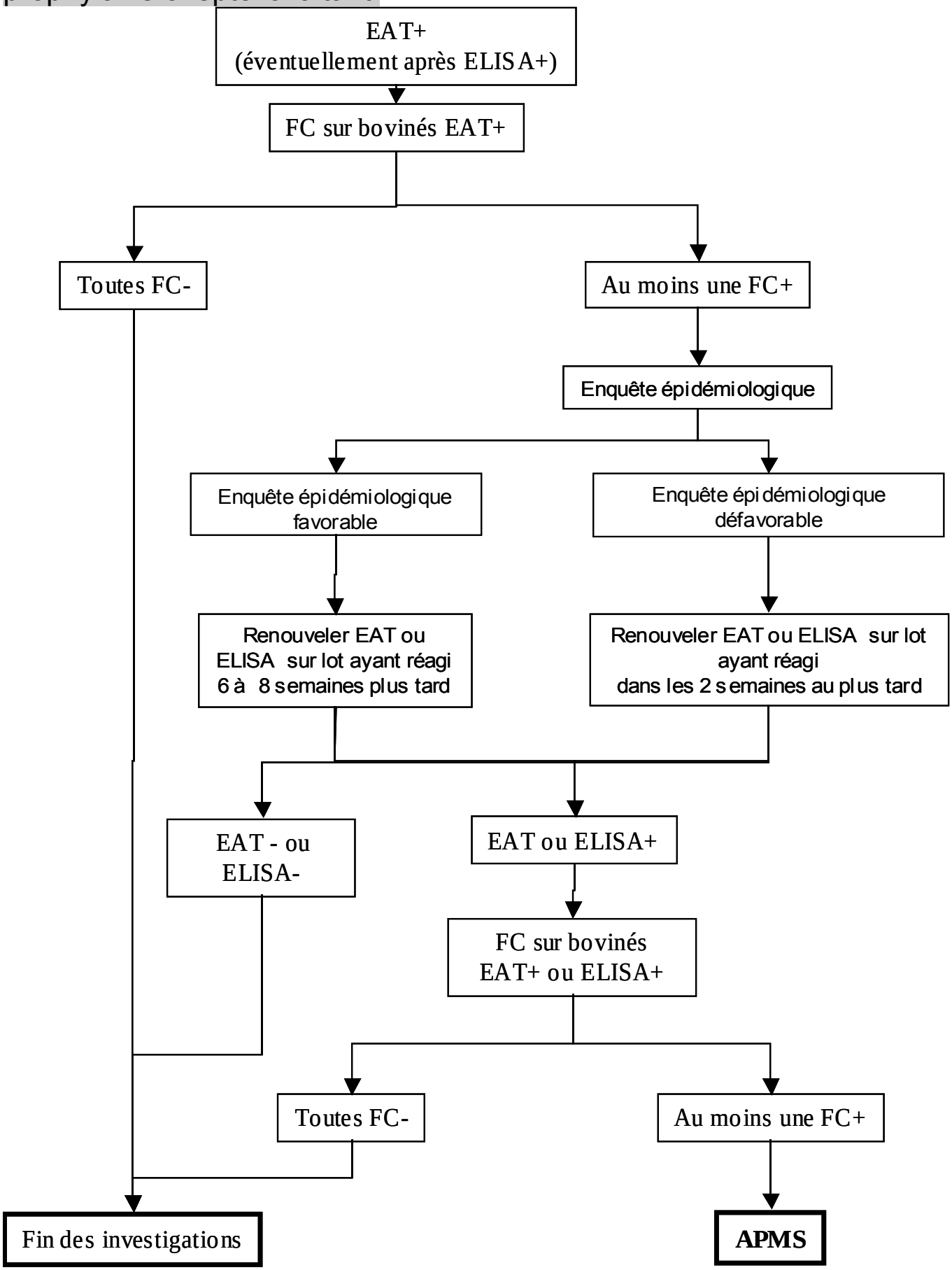
Annexe 2 : Conduite à tenir en cas d'avortement



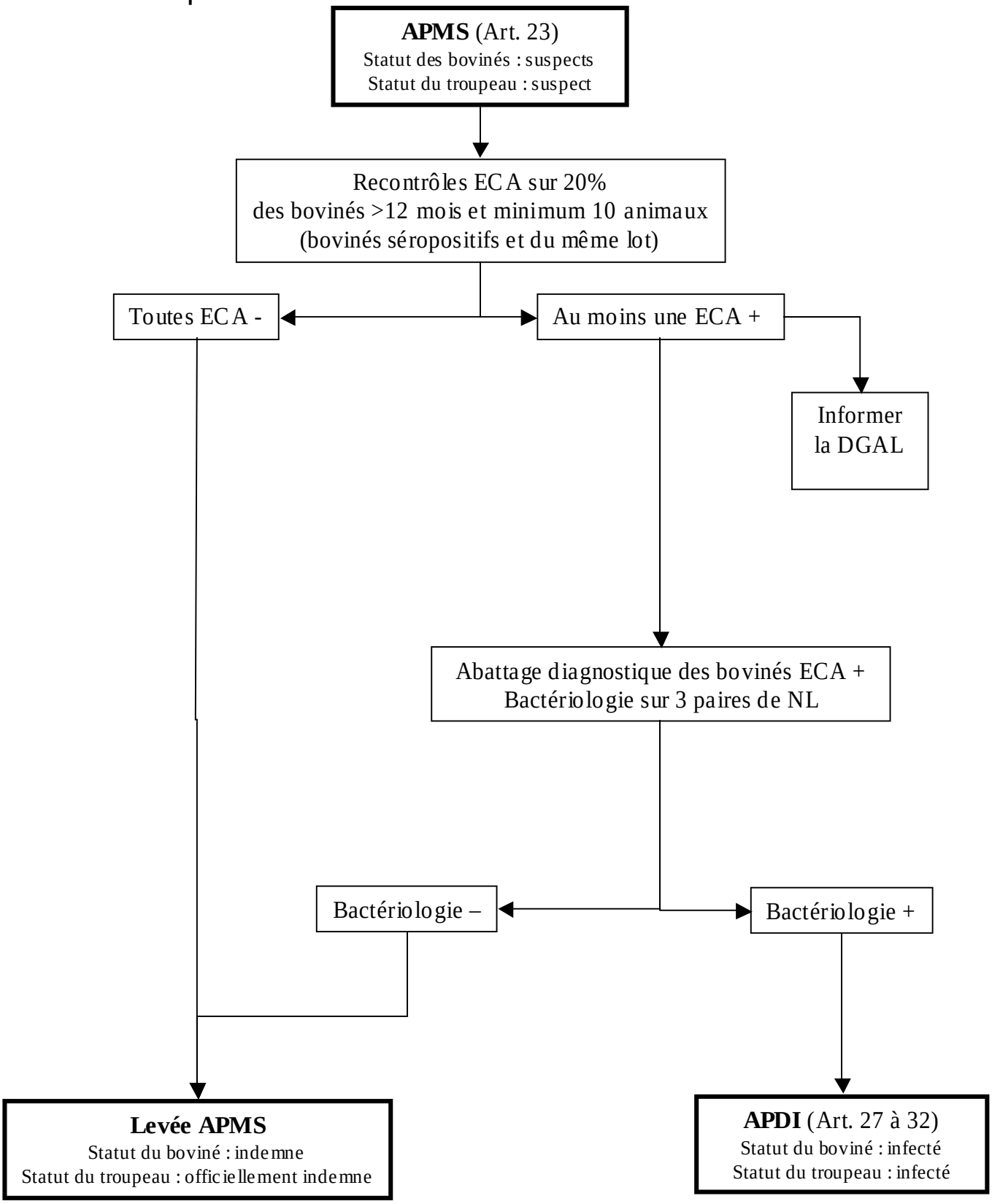
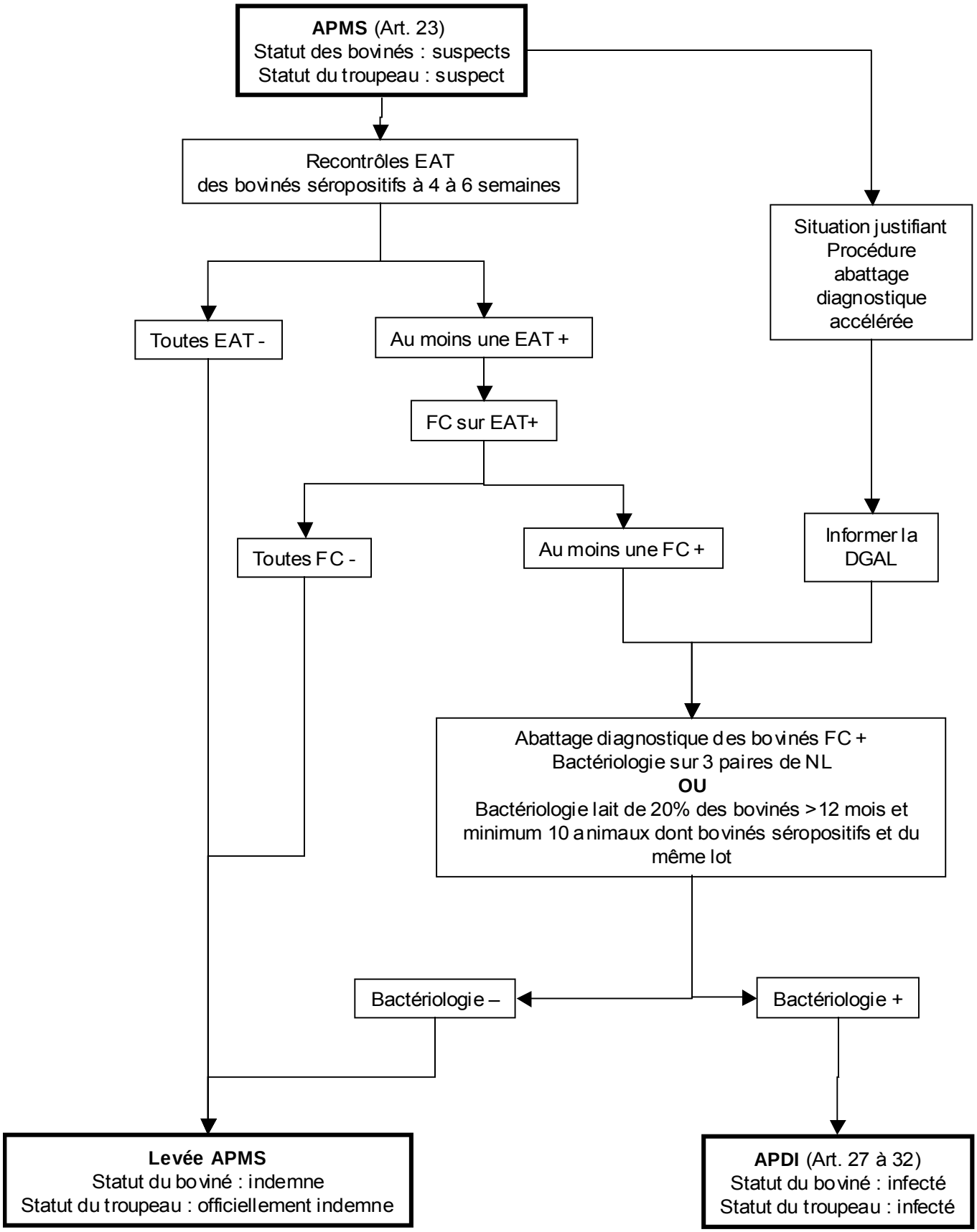
Annexe 3 : Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie cheptel laitier



Annexe 4 : Conduite à tenir en cas de résultat sérologique positif en prophylaxie cheptel allaitant



Annexe 5 : Conduite à tenir en cas d'APMS cheptel allaitant ou laitier – Brucelline disponible



Annexe 6 : Conduite à tenir en cas d'APMS cheptel allaitant ou laitier – Brucelline non disponible