

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi



FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

MEMOIRE DE DEA

THEME

**EVALUATION DU RISQUE DE BRUCELLULOSE LIE
A LA CONSOMMATION DU LAIT FRAIS DANS LA
COMMUNE RURALE DE CINZANA**

Présenté et soutenu par M. SOW Ibrahim

Pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en Sciences

Biologiques Appliquées

Option : Microbiologie Appliquée

Président du jury : Pr. Flabou BOUGOUDOGO

Membres du jury : Pr. Messaoud LAHBIB

Pr. Amadou Babana DIALLO

Dr. Boubacar DIALLO

Dr. Satigui SIDIBE

Directeur de mémoire : Dr. Mamadou NIANG

Date : 22 Juin 2011

Ce travail a été réalisé au Laboratoire Central Vétérinaire.

DEDICACE

Par la grâce de DIEU, ce mémoire est à mon père **M. Abdoulaye SOW**. Les mots me manquent pour te remercier sincèrement pour tout ce que tu as fait pour notre éducation.

Que DIEU te donne une longue vie pleine de santé.

REMERCIEMENTS

J'adresse mes vifs, sincères et sempiternels remerciements à toutes les structures et personnes impliquées dans la réalisation de ce mémoire. Il s'agit de :

- International Livestock Research Institut à travers son projet Safe Food Fair Food (SFFF) et le Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) en Côte d'Ivoire qui ont rendu cette recherche possible en nous inspirant cette thématique et en mettant à notre disposition les moyens financiers et matériels nécessaires à la réalisation de ce travail.
- **Docteur Mamadou NIANG**, Directeur de recherche au Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako ; l'honneur que vous me faites en acceptant d'encadrer ce mémoire. Je tiens à vous remercier une fois de plus pour votre disponibilité, votre sens de travail et votre humilité.
- **M. Adama FANE** pour sa participation au projet comme superviseur et encadreur sur terrain. Je tiens à le remercier une fois de plus pour son sens de la recherche et les efforts fournis sur terrain.
- **Professeur Bassirou BONFOH** Directeur Général du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) qui a octroyé une bourse pour le Mali et la Côte d'Ivoire. D'autre part, il m'a permis de renforcer mes capacités en matière de recherche en m'intégrant dans le groupe de recherche du projet SFFF. Merci professeur pour vos conseils et votre sagesse.
- **Dr.Makita KOHEI**, coordinateur du projet SFFF de l'Afrique. Votre assistance technique et votre soutien scientifique m'ont permis de mener à terme cette étude. Vos déplacements sur Bamako montrent une fois de plus votre disponibilité et votre sens de la recherche.
- **M. Martin DACKOUO**, pour son soutien scientifique, et son sens de la recherche. Sa compétence et ses informations ont enrichi ce document.
- **Dr Solenne COSTARD** pour son appui technique et scientifique. Des conseils que tout étudiant souhaite avoir une fois dans sa vie.
- **Dr. Gilbert FOKOU** de l'Institut du Sahel (INSAH) de Bamako/CSRS au Mali pour son apport scientifique et sa disponibilité. Tes conseils et ton souci de résultat m'ont aidé à mener ce travail à terme.
- Laboratoire Central Vétérinaire (LCV), pour avoir accepté le projet au sein de son institut et son soutien matériel. Mes remerciements sincères au Directeur Général du

LCV **Dr Saïdou TEMBELY** pour ses conseils et son souci de renforcement de capacité des étudiants débutants à la recherche et à son adjoint **Dr. Boubacar DIALLO** pour sa disponibilité et son sens de l'écoute.

- A ma mère **M^{me} SOW Mariam SIDIBE** pour son amour maternel, son souci et son appui jusqu'à aujourd'hui ainsi qu'à toute sa famille.
- A mes frères et sœurs particulièrement à **M. Souleymane SOW** et à **Kadiatou SOW**.
- Mon épouse **SOW Aïssa CISSE** pour ton soutien moral, ta patience et ton amour. Les mots me manquent pour te remercier à fond, mais une chose est sûre je sais que ce document est notre fruit parce que sans ton soutien il m'aurait été difficile sinon impossible de le réaliser.
- Tout le personnel du LCV de Bamako, particulièrement à **Dr. Satigui SIDIBE, Dr Zakaria BOCOUM, Dr. Abdallah TRAORE, M. Oumar MANGANE, Dr. Sidi DIAWARA, Dr. WELE Kadiatou COULIBALY, Dr. Cheick Kounta SIDIBE, Dr Modibo DIARRA, M. Souleymane MAGASSA et M. Adama DIAKITE**, pour leur soutien scientifique.
- Aux secrétaires du LCV, **Mme Oumou DIOP** et **Mme DIALLO Haby SISSOKO**, pour leurs disponibilités et leurs soutiens administratifs.
- **Feu Bakary KONATE**, pour ses conseils et son soutien. Que son âme repose en paix dans le jardin où coule les ruisseaux.
- Pr **Messaoud LAHBIB**, responsable du D.E.A option Microbiologie appliquée et responsable de la chaire UNESCO pour l'environnement à Bamako. Il nous a été une source d'inspiration et qu'il trouve ici ma profonde gratitude
- A tout le corps professoral de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) et plus particulièrement au Professeur **Babana Amadou DIALLO**, au Professeur **Fassé SAMAKE** et au Professeur **Diallo Kadia DIALLO** pour leurs observations pertinentes à ce document.
- **M. Moussa DIABATE**, Directeur de l'ONG CAB DEMESO et à **M. Boulabassi COUMARE** animateur du Projet d'Appui à la Filière Laitière de Cinzana (PAFLACIN) pour nous avoir facilité le contact avec les éleveurs.
- A toutes les coopératives productrices de lait et à toute la population de Cinzana.
- Aux autorités administratives de Cinzana, au chef de poste vétérinaire **M. Galadjo COULIBALY** et à tout le personnel du centre de santé

- **M. Valentin Bognan KONE**, étudiant ivoirien qui a effectué la partie sociologique de cette étude, sa disponibilité et son humilité resteront dans ma mémoire.
- **M. Adama TRAORE**, comptable du Projet de Renforcement des Capacités pour une Agriculture Durable (PRECAD) et sa famille pour leur accueil et leur hospitalité légendaire.
- A tous mes collègues de DEA particulièrement à **M. Aguibou TALL** et à **Rokiatou FANE**.

Que tous trouvent ici ma profonde gratitude et mes sincères salutations.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Dangers possibles dans les Denrées Alimentaires d'Origine Alimentaires (DAOA).

Tableau 2 : Taille calculée par village et taille obtenue.

Tableau 3: Statut des personnes qui s'occupent des troupeaux en %.

Tableau 4: Statut des personnes chargées de la traite en %.

Tableau 5: Devenir du lait en %.

Tableau 6: Consommation et vente de lait

Tableau 7: Etat de lait consommé.

Tableau 8: Facteurs de risque à la brucellose.

Tableau 9: Renseignements obtenus sur les femelles soumises au prélèvement en %.

Tableau 10 : Résultats d'analyse des échantillons de lait testés au ring test

Tableau 11: Résultats d'analyse par village des sérums de vache et de chèvre testés au rose Bengale.

Tableau 12: Résultats d'analyse par village des sérums humains testés au rose Bengale.

Tableau 13: Récapitulatif des résultats d'analyse de sérums testés au Rose Bengale.

Tableau 14: Résultats d'analyse des sérums positifs au Rose Bengale testés à l'ELISA.

Tableau 15: Résultats d'analyse des sérums testés à l'ELISA.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Composantes de l'évaluation des risques microbiologiques.

Figure 2 : Schéma général de l'évaluation du risque.

Figure 3: Carte de la commune rurale de Cinzana montrant les villages d'étude.

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1: Mode opératoire de l'ELISA indirect pour le dépistage de la brucellose.

ANNEXE 2: Protocole pour la préparation de Brucella Agar sélectif (marque OXOID)

ANNEXE 3: Questionnaire pour éleveur.

ANNEXE 4: Questionnaire individuel pour humain.

LISTE DES ABREVIATIONS

AP : Approche Participative.

B : *Brucella*.

CCA : Commission du Codex Alimentarius.

CSRS : Centre Suisse de Recherche Scientifique en Côte d'Ivoire.

DAOA : Denrées Alimentaires d'Origine Animale.

DNPIA : Direction Nationale des Productions et des Industries Animales.

DNSI : Direction Nationale de la Statistique et de l'Informatique.

EAT au RB : Epreuve à l'Antigène Tamponné au Rose Bengale.

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay.

ENVF : Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises.

ERM : Evaluation des Risques Microbiologiques.

FAO: Food and Agricultural Organization.

FCFA : Franc Communauté Financière Africaine.

ILRI: International Livestock Research Institute.

JECFA : Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

JMPR : Comité mixte FAO/OMS d'experts sur les résidus de pesticides.

JEMRA : Comité mixte FAO/OMS d'experts sur l'évaluation des risques microbiologiques.

LCV : Laboratoire Central Vétérinaire.

LPS : Lipopolysaccharides.

M : *Micrococcus*

MI : Millilitre.

OIE : Organisation Mondiale pour la Santé Animale.

OMC : Organisation Mondiale du Commerce

OMS: Organisation Mondiale pour la Santé.

PAFLACIN : Projet d'Appui à la Filière Laitière de Cinzana.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PIB : Produit Intérieur Brut.

RGPH: Recensement Général de la Population et de l'Habitat.

SFFF: Safe Food Fair Food.

µl : Microlitre.

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer le risque de brucellose lié à la consommation du lait frais associé à différentes pratiques d'hygiène dans le secteur de la production laitière dans la commune rurale de Cinzana.

Une étude transversale a été menée dans 12 villages de la commune rurale de Cinzana au Mali, et se composait de deux enquêtes complémentaires. La première a utilisé une approche participative (AP), basée sur un groupe de discussion couplé avec des interviews de question semi-ouverte lors des assemblées générales dans les villages. Son objectif était de décrire les attitudes et les pratiques liées à la production et à la consommation de lait. La seconde a été une enquête de prévalence menée en parallèle sur les humains et les troupeaux laitiers. Dans chaque ménage sélectionné, le sérum a été recueilli à partir de personnes consommant quotidiennement le lait et/ou en contact avec le bétail, après leur consentement. Un questionnaire sur les pratiques de gestion du bétail et les habitudes de consommation de lait a également été administré aux ménages inclus dans l'étude. Deux types d'échantillons biologiques ont été adoptés auprès de vaches et de chèvres laitiers: le lait cru et le sérum. Le test à l'anneau a été réalisé sur des échantillons de lait. Le test au rose Bengale a été effectué sur tous les sérums humains et animaux. Les sérums positifs au rose Bengale ont été testés à l'ELISA pour confirmation. Les sérums humains positifs à l'ELISA ont été resoumis au test de rose Bengale par dilution car ce test permet de différencier l'infection réelle à l'exposition à l'agent pathogène.

Le test à l'anneau a donné une séroprévalence de 5,9% (2 / 34) des échantillons de lait provenant de vaches et de 1,3% (1 / 75) dans ceux des chèvres. Seulement 1,0% (2 / 204) des sérums de vaches et 0,7% (3 / 404) des sérums de chèvres ont été positifs au test de Rose Bengale. Le même test a donné 0,9% (2 / 213) des sérums humains positifs. Tous les animaux positifs au test de rose Bengale a donné des résultats négatifs avec l'ELISA, tandis qu'un cas humain a été séropositif. Ce cas a été enregistré dans le village où les deux échantillons de lait de vaches ont été positifs, et que les troupeaux bovins sont individuels plutôt que communautaire.

Les résultats indiquent que 100% et 98,1% des répondants consomment respectivement du lait de vache et de chèvre, sans chauffage préalable. La manipulation de l'avorton est aussi courante parmi les personnes interrogées: 72,7%, 6,1% et 11,3% ont affirmé avoir manipulé respectivement l'avorton provenant des chèvres, des vaches et des deux espèces à la fois.

Cette étude confirme la présence de brucellose humaine et animale dans la commune rurale de Cinzana, Mali. La prévalence dans cette étude a été très faible malgré une production risquée répandue et les pratiques de consommation. D'autres investigations sur les facteurs de risque et les pratiques de prévention seraient précieuses.

Mots-clés: Brucellose, la prévalence, le lait cru, l'avortement, Cinzana / Mali.

Abstract

The objective of this study was to assess the risk of brucellosis associated with different hygiene practices in the informal dairy production sector in rural Mali and local milk consumption habits.

A cross-sectional study was conducted in 12 villages in the rural commune of Cinzana in Mali, and consisted of two complementary surveys. The first used a participatory approach, based on focus group discussion coupled with open question interviews during general meetings in villages. Its objective was to describe attitudes and practices related to milk production and consumption. The second was a prevalence survey conducted in parallel on humans and dairy herds. In each selected household, serum was collected from people consuming milk or in contact with livestock, after written consent was given. A questionnaire on livestock management practices and milk consumption habits was also administered to households included in the study. Two types of biological samples were collected from dairy cows and goat: raw milk and serum. Screening agglutination Ring test was carried out on milk samples. Rose Bengal test was performed on all human and animal sera. Positive Rose Bengal samples were tested by ELISA for confirmation. Human sera positive to ELISA were re-submitted to a Rose Bengal test by dilution. This confirmatory test allows differentiating between actual infection and exposure to the pathogen.

Positive results to the ring test were obtained for 5.9% (2/34) of milk samples from cows and 1.3% (1/75) of milk samples from goat. Only 1.0% (2/204) of sera from cows and 0.7% (3/404) of sera from goat were positive to the Rose Bengal test. The same test gave positive results in 0.9% (2/213) of human sera. All animal positive with Rose Bengal yielded negative results with ELISA, while one serological human case was found. This case was recorded in the village where the 2 positive cow milk samples came from, and where cattle herds are managed individually rather than by the community.

The results indicated that 100% and 98.1% of respondents consume milk from cow or goat respectively without prior heating. Handling of abortion material was also common amongst respondents: 72.7% reported it with goats, 6.1% with cows and 11.3% with both species.

This study confirms the presence of human and animal brucellosis in the rural area of Cinzana, Mali. The prevalence found in this study was very low despite widespread risky production and consumption practices. Further investigations on risk factors and preventive practices would be valuable.

Keywords: Brucellosis, prevalence, raw milk, abortion, Cinzana / Mali.

I. INTRODUCTION

Le Mali est un pays à vocation agro-pastorale ayant un cheptel estimé à 8 896 392 de bovins, 11300 247 d'ovins, 15735 670 de caprins et 36 000 000 de volailles (DNPIA., 2010). Cet élevage occupe une place prépondérante dans l'économie nationale. Il correspond à 11% du Produit Intérieur Brut (PIB), 24% de la production rurale et 15% des recettes d'exportation (DNSI., 2009). Il constitue le troisième produit d'exportation après le coton et l'or.

Malgré ce grand effectif la production laitière ne satisfait pas les besoins de la population sans cesse croissante. Cette croissance rend de plus en plus difficile l'approvisionnement de la population en produits agroalimentaires surtout quand il s'agit de satisfaire une demande croissante en lait. Dans la plupart des pays en voie de développement cette demande accrue s'est traduite par une augmentation des importations. Cependant cette solution devient de plus en plus difficile à mettre en œuvre lorsque l'aide alimentaire décroît et que les pays doivent s'approvisionner en produits sur le marché mondial.

Plus de quinze milliards de FCFA par an sont investis à l'importation du lait au Mali (DNSI., 2009). Pour diminuer (ou limiter) la dépendance du pays vis-à-vis de ces importations, le gouvernement du Mali a mis en place des projets de développement laitiers. Ces projets sont principalement destinés à approvisionner les zones urbaines et périurbaines. Ils présentent des caractéristiques différentes. Ils permettent soit de créer un secteur de production laitière, soit d'appuyer des élevages existants par l'encadrement des éleveurs. Ils peuvent soit concentrer leurs actions sur l'amélioration de la production ou sur le développement des circuits de collecte et de transformation, soit développé un système de productions modernes en introduisant des techniques intensives de production, ou essayer d'améliorer la productivité du secteur traditionnel. La mise en œuvre de ces projets rencontre de nombreuses difficultés techniques. Les principales semblent être l'alimentation et la santé, surtout lorsque le développement laitier s'appuie sur le changement socioculturel des éleveurs qui sont agropastoralistes, nomades et transhumants. Mais d'autres problèmes subsistent à savoir l'hygiène du lait avec comme corollaire le risque microbiologique lié à la consommation du lait. En effet chaque année, environ 1,5 milliards de cas de diarrhée dans le monde dus essentiellement aux aliments de mauvaise qualité sont enregistrés entraînant 2,2 millions de morts (Bonfoh et al., 2010).

II. OBJECTIFS

1. Objectif général

Améliorer la santé publique par une maîtrise des risques à l'interface homme-animal.

2. Objectifs spécifiques

- Déterminer le risque de brucellose lié à la consommation du lait frais de chèvres et de vaches.
- Déterminer la prévalence de la brucellose chez les humains, chèvres et les vaches;
- Déterminer les facteurs de risque de la brucellose.

III. POINT DE CONNAISSANCES

A. Analyse des risques

1. Définition

Selon la Commission du Codex Alimentarius (CCA), l'analyse des risques est une évaluation systématique des dangers potentiels liés aux aliments et le terme «**risque**» comme la fonction de probabilité d'un effet nocif et de la gravité de cet effet, du fait de l'existence d'un ou plusieurs danger(s) alimentaire(s). C'est un processus comportant trois composantes: 1) l'évaluation scientifique des risques, 2) la gestion des risques et 3) la communication à propos des risques (FAO/OMS., 2007). La figure 1 donne les éléments constitutifs de l'Evaluation des Risques Microbiologiques (ERM).

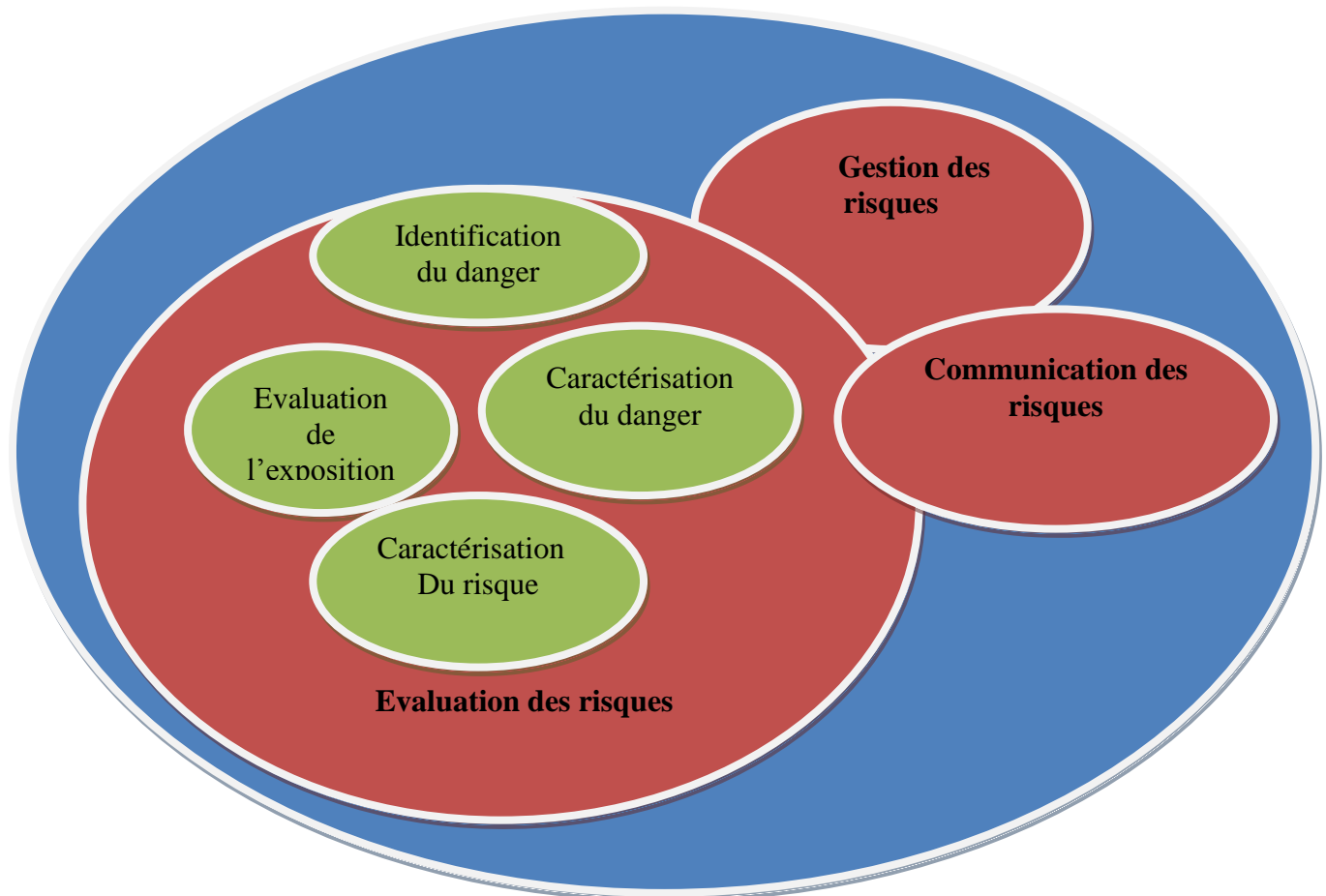


Figure 1 : Composantes de l'évaluation des risques microbiologiques (ERM)
(Bonfoh et al., 2010).

2. Historique

a. Pratiques empiriques

Il y a de très nombreux types de risques. Mais dans le cadre de cette étude, nous nous concentrerons sur les risques provoqués par les dangers liés aux Denrées Alimentaires d'Origine Animale (DAOA) et plus particulièrement au risque microbiologique lié à la consommation du lait frais. Sous une forme ou une autre, l'analyse des risques est employée depuis des siècles. Chaque fois que quelqu'un prend la décision volontaire de ne pas manger un aliment parce que celui-ci lui semble suspect, il entreprend en fait une procédure d'évaluation qui repose sur une analyse de la situation. Ce qui aboutit à une estimation des conséquences éventuelles qu'il y aurait à consommer cet aliment. La décision repose sur la perception du degré de risque associé à l'aliment en question, elle-même basée sur l'observation et les informations disponibles à ce moment-là. Cet aliment avait peut-être un aspect anormal ou une odeur inhabituelle ou encore «mauvais goût». La décision de ne pas manger cet aliment équivaut alors à une forme simple d'*évaluation des risques* basée sur les observations sensorielles, de l'apparence visuelle, de l'odeur et du goût. La décision de ne pas consommer cet aliment au motif qu'il pourrait entraîner un danger correspond à une *gestion des risques*. Lorsque d'autres sont mis au courant de votre évaluation et de votre décision, vous avez *communiqué* un message d'information sur les risques qui prévient les autres d'une possibilité de danger. En procédant de la sorte, vous avez appliqué ce que les experts de l'analyse des risques considèrent être les trois composantes principales de ce domaine, à savoir l'évaluation des risques, la gestion des risques et la communication à propos des risques.

Cette pratique a sans aucun doute été utilisée par nos aïeux et elle s'est révélée efficace pour éviter les risques. Toutefois, dans le monde moderne où les dangers potentiels qui pèsent sur notre alimentation ont de multiples origines et sont pour la plupart indétectables par la simple observation de l'aspect, de l'odeur ou du goût, elle n'est plus suffisante. Tout au long de la chaîne de la filière alimentaire, il y a aujourd'hui une multitude de dangers d'origines diverses. En outre, beaucoup de ces dangers ont un impact significativement grave sur le consommateur.

b. Pratiques modernes

Afin de protéger officiellement les consommateurs de ces risques, l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (l'OIE) et l'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation/l'Organisation Mondiale de la Santé (FAO/OMS) ont défini des législations permettant de réglementer la situation à travers des normes alimentaires de la Commission du Codex Alimentarius. C'est en référence à ces normes que le projet Safe Food Fair Food (SFFF) a été créé par International Livestock Research Institute (ILRI) pour associer la méthode participative aux approches de la Commission du Codex Alimentarius. La définition de ces mesures a été facilitée par le développement et le perfectionnement continus des disciplines scientifiques nécessaires pour identifier, détecter, confirmer l'existence de dangers dans les aliments et préciser leur origine.

L'analyse des risques est désormais un élément fondamental des règles du commerce alimentaire.

En mars 1991, une Conférence (FAO/OMS) sur les normes alimentaires, les substances chimiques dans les aliments et le commerce des produits alimentaires s'est tenue à Rome, en Italie (FAO/OMS., 2007). La Conférence a reconnu qu'en fournissant des évaluations reposant sur de solides principes scientifiques et d'évaluation des risques, les comités scientifiques consultatifs tels que le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) actifs depuis 1956 et la réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides (JMPR) active depuis 1963 jouaient un rôle essentiel. Cette conférence a donc recommandé que la FAO et l'OMS prennent des mesures afin d'être plus sensibles à ces principes. La Conférence a également recommandé que la CCA et les Comités correspondants du *Codex* responsables des normes, des codes d'usages ou des directives portant sur la protection de la santé humaine rendent les méthodes qu'ils ont utilisées explicites pour évaluer les mesures d'évaluation des risques. C'est après cette conférence que les Réunions conjointes d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des risques microbiologiques (JEMRA) ont vu le jour. Elles sont actives depuis 2000. En répondant aux requêtes de la CCA et des États Membres de la FAO et l'OMS, ainsi qu'au besoin croissant d'avis scientifiques (la conclusion tirée d'une évaluation compétente qui tient compte des données scientifiques, y compris des incertitudes) fondés sur les risques, les JEMRA visent à tirer le meilleur parti de l'Évaluation des Risques Microbiologiques (ERM) en tant qu'instrument permettant d'éclairer les actions et décisions destinées à améliorer la sécurité sanitaire des aliments et à la généraliser de façon égale dans les pays développés et en développement.

3. Evaluation des risques

La FAO/OMS définissent l'évaluation des risques comme étant des effets néfastes connus ou potentiels résultant d'une exposition humaine à des dangers d'origine alimentaire. L'évaluation (ou *évaluation scientifique*, ou *appréciation*) des risques comporte les quatre étapes suivantes:

a. Identification du danger

Un danger est constitué par tout agent biologique, chimique ou physique pouvant avoir un effet néfaste sur la santé (Sanaa et al. 2002). Dans le cas des maladies infectieuses transmissibles par les aliments, il s'agit d'un agent microbien présent dans les aliments et capable d'entraîner un effet néfaste chez l'homme. L'identification du danger est l'étape permettant de dresser la liste des dangers associés à un aliment ou à un groupe d'aliments pour lesquels il est intéressant de mener une appréciation des risques. Le tableau 1 donne les dangers possibles dans les DAOA.

Tableau 1: Dangers possibles dans les DAOA. (Source: Bonfoh et al., 2010)

Microbiologiques	Chimiques	Physiques
Infections bactériennes	Toxines	Métal
Organes toxigènes	Additifs alimentaires	Plastique
Moisissures	Résidus de pesticides	Bris de verre
Parasites	Résidus de médicaments	Pierre
Virus	Produits chimiques dans l'env.	Morceaux de bois
Prions	Contaminants issus d'emballages	Fragments d'os
	Allergènes	

b. Caractérisation du danger

C'est l'appréciation qualitative et/ou quantitative de la nature des effets néfastes pour la santé, provoqués par les agents biologiques, chimiques ou physiques qui peuvent être présents dans l'aliment. Pour les agents chimiques, une appréciation de la relation dose-effet devrait être faite et pour les agents biologiques ou physiques, une appréciation de la relation dose-effet devrait être faite si les données sont disponibles (FAO/OMS., 2006).

c. Évaluation de l'exposition

C'est l'appréciation qualitative et/ou quantitative de l'ingestion probable d'agents biologiques, chimiques et/ou physiques par l'intermédiaire des aliments ainsi que par l'exposition à d'autres sources s'il y a lieu (FAO/OMS., 2006).

d. Caractérisation des risques

Elle se définit comme une estimation qualitative et/ou quantitative, de la probabilité de survenance incluant les incertitudes qui lui sont associées, et de la gravité des effets néfastes sur la santé, connus ou potentiels, d'une population donnée, basée sur l'identification des dangers, la caractérisation des dangers et l'évaluation de l'exposition (FAO/OMS., 2006). La figure 2 modélise la transmission de l'agent infectieux en tenant compte des différentes étapes de la filière alimentaire de la ferme à la table.

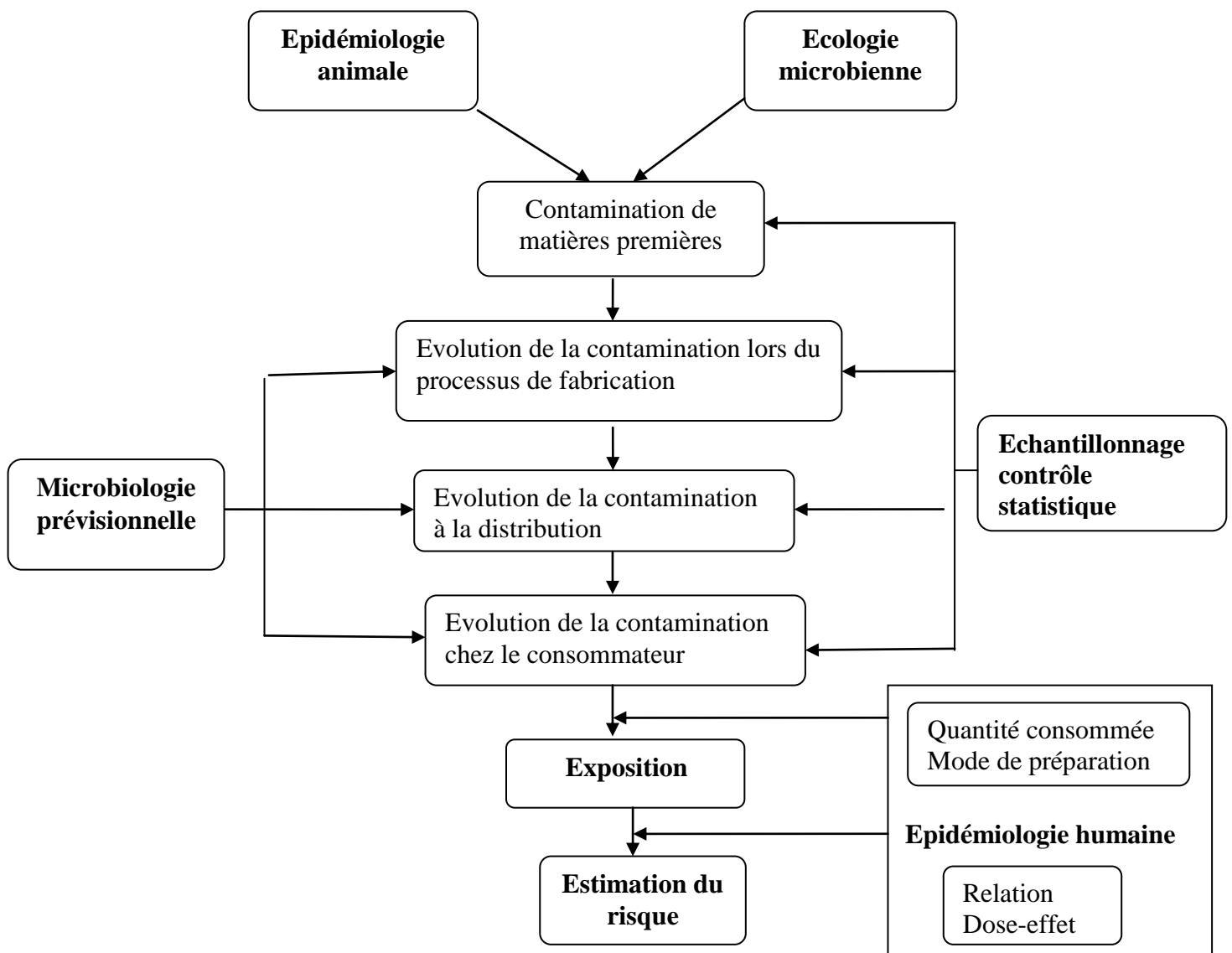


Figure 2 : Schéma général de l'évaluation du risque (source Sanaa et al., 2002).

4. Gestion des risques

C'est un processus distinct de l'évaluation des risques. Elle vise à apprécier les politiques alternatives en consultant toutes les parties concernées. Elle tient compte de l'évaluation des risques et des autres facteurs pertinents pour la protection de la santé des consommateurs et de la promotion de pratiques commerciales loyales. Au besoin, elle sélectionne les options appropriées de prévention et de contrôle (Delia., 2008; FAO/OMS., 2007).

La gestion des risques a été examinée en 1997 lors de la consultation FAO/Organisation du Mondial pour Commerce (FAO/OMC). Cette consultation s'était portée sur l'examen des pratiques actuelles de gestion des risques par le *Codex* et les comités d'experts. Elle a proposé des définitions, identifié les composantes de la gestion des risques et précisé les principes généraux de la gestion des risques alimentaires. Elle a établi que la gestion des risques était le principal élément de la procédure d'analyse des risques et a retenu quatre composantes fondamentales pour la gestion des risques:

- l'évaluation des risques;
- l'évaluation des différentes options de gestion des risques;
- l'exécution de la décision de gestion;
- le suivi et contrôle.

Elle a également identifié huit principes de base dans le cadre de l'approche de gestion des risques de nocivité des aliments:

- *Principe 1*: la gestion des risques doit suivre une approche structurée;
- *Principe 2*: la protection de la santé des personnes doit être la première considération prise en compte dans les décisions de gestion des risques;
- *Principe 3*: les décisions et mesures de gestion des risques doivent être transparentes;
- *Principe 4*: la détermination d'une politique d'évaluation des risques doit être considérée comme une composante spécifique de la gestion des risques;
- *Principe 5*: la gestion des risques doit garantir le caractère scientifique de la démarche d'évaluation des risques et pour cela maintenir une séparation fonctionnelle entre la gestion et l'évaluation des risques;
- *Principe 6*: les décisions de gestion des risques doivent prendre en compte l'incertitude du résultat de l'évaluation des risques;

- *Principe 7*: la gestion des risques doit inclure, dans tous les aspects de sa démarche, une communication d'informations claire et interactive avec les consommateurs et les autres parties concernées;
- *Principe 8*: la gestion des risques est une démarche permanente qui doit prendre en compte toutes les nouvelles données produites pour évaluer et examiner les décisions de gestion des risques.

5. Communication sur les risques

Pour achever la démarche consultative sur l'analyse des risques, une troisième consultation conjointe FAO/OMS s'est tenue en février 1998 et a porté sur la communication sur les risques dans le domaine des normes alimentaires et de l'innocuité des aliments. La communication sur les risques est l'échange interactif d'informations et d'opinions tout au long du processus d'analyse du risque (FAO/OMS., 2006). Concernant le risque, les facteurs associés au risque et les perceptions du risque, entre les évaluateurs scientifiques du risque, les gestionnaires du risque, les consommateurs, l'industrie, la communauté scientifique et les autres parties intéressées, comprenant l'explication des résultats de l'évaluation scientifique du risque et le raisonnement formant la base des décisions de gestion du risque. Cette consultation a identifié les éléments et les principes d'orientation de la communication sur les risques, les obstacles et les stratégies pour une communication efficace sur les risques. Sept principes ont été identifiés par la consultation en vue d'une communication efficace sur les risques. Il s'agit de:

- *Connaître l'opinion publique*: comprendre la motivation, les opinions, les préoccupations et impressions des individus et des groupes qui forment l'opinion et concevoir des messages communiquant des informations sur les risques afin d'aborder ces problèmes, permet d'améliorer la communication. L'écoute de toutes les parties concernées constitue également un aspect important de la communication sur les risques.
- *Impliquer les experts scientifiques*: ces experts doivent être impliqués car ils peuvent fournir des informations sur la démarche d'évaluation des risques et sur ces résultats, y compris sur les hypothèses et jugements subjectifs. Les décideurs chargés de la gestion des risques auront ainsi une information et une compréhension complètes des risques.

- *Disposer de compétences d'experts en communication:* l'expertise en matière de communication est essentielle pour faire passer de façon claire, compréhensible et instructive, le message approprié d'information sur les risques. Il est donc nécessaire, dès le tout début, d'impliquer ces experts dans le processus de communication.
- *Être une source d'information crédible:* l'information qui provient d'une source crédible est susceptible d'être mieux acceptée par le public. En outre, le spécialiste en communication doit s'appuyer sur des faits, se montrer expert et attentif au bien-être de la population, responsable, honnête et avoir une bonne réputation. Une communication efficace reconnaît l'existence de problèmes et difficultés, ses contenus et approches doivent être ouverts et elle doit être opportune.
- *Partager les responsabilités:* la communication fait intervenir de multiples acteurs, parmi lesquels les fonctionnaires chargés de la réglementation, les industriels, les consommateurs et les médias. Chacun a un rôle spécifique à jouer mais en partageant les responsabilités, chacun peut assumer le sien de telle façon que cela permette une communication efficace.
- *Distinguer la science et les jugements de valeur:* lors de l'élaboration d'un message communiquant des informations sur les risques, il est essentiel de bien distinguer les faits des opinions.
- *Assurer la transparence:* pour être sûr que la population accepte les messages d'information sur les risques, le processus doit être ouvert et contrôlable par les parties intéressées.

B. Danger microbiologique lié au lait

C'est le danger majeur à maîtriser dans le cadre de la transformation laitière. Les agents infectieux présents dans les DAOA peuvent provenir de plusieurs sources, et principalement des animaux, de l'environnement, du matériel, du personnel de transformation ou des visiteurs en contact avec le lait (Ministère de l'Élevage du Sénégal., 2005).

1. Agents infectieux provenant des animaux

Tout animal malade est susceptible de transmettre un agent pathogène par le lait ou par la viande. En particulier, les animaux atteints de tuberculose ou de brucellose fournissent du lait contaminé en agents infectieux qui sont respectivement *Mycobacterium* et *Brucella* (Ministère de l'Élevage du Sénégal., 2005).

2. Caractéristiques microbiologiques de *Brucella Spp*

Les microbes du genre *Brucella* appartiennent à la famille des *Parvobacteriaceae*, qui sont des bactéries de petite taille (0,6 à 1,5 µm de long sur 0,4 µm d'épaisseur) qui se présentent sous forme de coccobacilles immobiles. Ce sont des microbes aérobies, gram négatifs, asporulés et parfois encapsulés. Ces microbes provoquent une maladie appelée brucellose (Pillet et al., 1975) comme décrite ci-dessous.

3. Brucellose

La brucellose (ou fièvre de Malte, mélitococcie, fièvre ondulante ou fièvre sudoroalgique) est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'homme (zoo-anthroponose) (Desachy ., 2005).

a. Symptômes

La brucellose se caractérise essentiellement chez les femelles par des avortements, chez les mâles par de l'orchite et de l'épididymite ; chez l'homme, elle se manifeste par des maux de tête, les douleurs articulaires, la transpiration avec une fièvre pouvant atteindre 40°C (Toukara et al., 1994).

b. Historique

L'agent pathogène de la brucellose a été découvert par Bruce en 1886 qui l'a isolé de la rate d'un malade atteint d'une infection non typhoïdique et dénommé *Micrococcus melitensis* (Dumas et al., 1958). Bang (1896) a mis en évidence dans les sécrétions génitales de vaches ayant avorté et dans le liquide stomacal des avortons un microbe nommé *Bacillus*

abortus qui ressemble à *M. melitensis*. Dumas et al., (1958) rapportent que quelques années après, Zammit (1905) a isolé *M. melitensis* dans le sang et dans le lait de chèvres maltaises et a démontré que ces animaux sont le réservoir de virus. Le lait de ces chèvres a été démontré comme agent de contagion de la brucellose humaine. Enfin, Traun a découvert en 1914 la troisième variété de *Brucella*, *B. suis* qui est l'agent de l'avortement des truies. Jusqu'en 1918, ces trois variétés de *Brucella* étaient considérées comme des espèces distinctes, mais Evans (1918) eut le mérite de montrer qu'elles doivent être classées dans le même genre et proposa la création d'un genre *Brucella* en l'honneur de David Bruce par ce qu'elles possèdent la même structure antigénique.

c. Espèces affectées

L'absence de spécificité d'hôte explique l'interdépendance qui peut exister entre les brucelloses des diverses espèces animales et les conséquences épidémiologiques qui en découlent. Chaque espèce de *Brucella* infecte préférentiellement un hôte donné (Dumas et al., 1958):

- *B. melitensis* est typiquement l'agent de la brucellose des petits ruminants (mélicitococcie). C'est aussi l'espèce la plus pathogène pour l'Homme.
- *B. abortus* cause l'avortement épizootique des bovins.
- *B. suis* infecte principalement le porc.
- *B. neotomae* n'a été isolé que sur des petits rongeurs muridés (*Neotomae lepida*) des régions désertiques de l'Utah aux Etats-Unis.
- *B. ovis* est l'agent de l'épididymite contagieuse du bélier.
- *B. canis* est responsable de la brucellose canine.

D'autres *Brucella* ont même été isolées chez des mammifères marins. En réalité, le spectre du pouvoir pathogène des *Brucella* est extrêmement large: *B. abortus*, *melitensis* et *suis* peuvent ainsi infecter naturellement l'homme, les ruminants domestiques et sauvages, les suidés, les équidés, les carnivores, les rongeurs et parfois les oiseaux.

d. Etiologie

Il est possible de distinguer très schématiquement dans l'évolution de l'infection brucellique deux périodes (primaire et secondaire). La période primaire suit la contamination. Elle évolue en 3 étapes (Merial., 2004):

- La 1^{ère} étape correspond à la multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques de la porte d'entrée;

- La 2^{ème} est marquée, au bout de quelques jours à plusieurs semaines, par la dissémination lymphatique et sanguine (bactériémie discrète et fugace dans l'espèce bovine où il est très difficile d'obtenir une hémoculture positive) de la bactérie. Cette phase est asymptomatique chez les bovins;

- La 3^{ème} se traduit par la localisation et la multiplication des *Brucella* en certains sites électifs, les tissus lymphoïdes (notamment les nœuds lymphatiques de la sphère génitale mammaire), le placenta chez les femelles gravides, les testicules et ses annexes (épididyme, etc.) chez le mâle; la glande mammaire et les bourses séreuses et synoviales (bourses carpiennes) et certaines articulations. Ces localisations peuvent s'accompagner de manifestations cliniques caractérisant la brucellose aiguë: avortement, orchite ou épididymite. Elles permettent aussi pour certaines femelles (utérus gravide, mamelle), l'excrétion des *Brucella* et leur dissémination.

La période secondaire est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement d'une immunité (de type cellulaire). Toutefois, la guérison (élimination des *Brucella*) est rare. Les *Brucella* ont la capacité de résister à l'action des mécanismes immunitaires et se maintiennent plusieurs années dans certains sites privilégiés, notamment les nœuds lymphatiques.

Une réactivation peut être induite à chaque gestation et l'infection placentaire peut alors provoquer un avortement et/ou induire une excrétion bacillaire à l'occasion des mises-bas. Leur persistance dans les bourses séreuses et articulations peut aussi générer un hygroma ou une arthrite chronique.

e. Mécanismes de l'avortement

Les *Brucella* se multiplient dans l'espace utéro-chorial, entraînant une placentite exsudative et nécrotique. Ces lésions provoquent un décollement utéro-chorial et des adhérences fibreuses entre placenta et utérus. Si ces lésions sont étendues, elles sont responsables d'une interruption des échanges nutritifs entre la mère et son fœtus. Le fœtus meurt d'anoxie et il y a avortement. Des brèches peuvent également permettre le passage de *Brucella* dans la cavité amniotique. Les bactéries sont alors ingérées par le fœtus et provoquent une septicémie mortelle donc là encore l'avortement. Si les lésions sont limitées, l'infection placentaire est compatible avec la survie du fœtus. On peut alors observer la naissance à terme ou prématurée (l'expulsion du fœtus vivant peut être sous la dépendance de modifications hormonales, consécutives aux lésions placentaires) du produit. Mais, parfois, le

nouveau-né souffre de lésions cérébrales d'origine hypoxique entraînant sa mort dans les 48 heures suivant sa naissance.

Par ailleurs, les adhérences entre chorion et utérus provoquent des rétentions placentaires chez les femelles infectées (Merial., 2004).

f. Répartition géographique

La brucellose est présente partout dans le monde mais elle est bien contrôlée dans la plupart des pays développés. La maladie clinique est encore courante dans le Moyen-Orient, en Asie, en Afrique du Sud et en Amérique centrale dans le bassin méditerranéen et dans les Caraïbes. Les *Brucella* varient dans leur répartition géographique (Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, Brucellose., 2007).

- *B. abortus* se trouve dans le monde entier, sauf au Japon, au Canada et dans certains pays comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande et en Israël, où elle a été éradiquée (Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, Brucellose bovine 2007). L'éradication de troupeaux domestiques est pratiquement terminée dans certains pays européens dont: Danemark, Finlande, Norvège, Suède, Grande Bretagne, Allemagne, Autriche et Hollande (Merial, 2004)..

- *B. melitensis* est particulièrement fréquent dans la Méditerranée. Il se trouve également au Moyen-Orient et en Asie Centrale, autour du golfe Persique et dans certains pays d'Amérique Centrale. Cet organisme a été signalé en Afrique et en Inde, mais il ne semble pas à l'état endémique dans le nord de l'Europe, l'Amérique du Nord, Asie du Sud, en Australie ou en Nouvelle-Zélande. Aux États-Unis, des cas ont été rapportés principalement chez les caprins importés et rarement chez les bovins (Centre de Sécurité Alimentaire et de Santé Publique, Brucellose ovine et caprine., 2007).

- *B. ovis* se retrouve probablement dans la plupart des régions d'élevage ovin du monde. Il a été rapporté de l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud, l'Afrique du Sud et de nombreux pays en Europe (centre de sécurité alimentaire et de santé publique, Epidimyte ovine., 2007).

- *B. suis*, a été trouvé dans le passé dans le monde entier chez les porcs. Cet organisme a été éradiqué de porcs domestiques aux États-Unis, Canada et de nombreux pays européens. Toutefois, *B. suis* persiste à l'état sauvage. *B. suis* continue à se propager dans les troupeaux domestiques dans certains pays du Sud en 'Amérique centrale (y compris le Mexique) et en Asie. Des cas ont parfois été rapportés de certains pays africains, dont l'Ouganda et la Côte

d'Ivoire (centre de sécurité alimentaire et de santé publique, Brucellose porcine et sauvage., 2007).

- *B. canis* a été signalé aux Etats-Unis (en particulier dans les États du sud), Canada, Amérique centrale et latine, certains pays européens, la Tunisie, le Nigeria, Madagascar, Malaisie, Inde, Corée, Japon et Chine. *B. canis* se trouve pratiquement dans la plus grande partie du monde, mais la Nouvelle-Zélande et l'Australie semblent être à l'abri (centre de sécurité alimentaire et de santé publique, Brucellose canine., 2007).

g. Mode de transmission

La contamination humaine s'opère par la consommation des produits laitiers ou carnés contaminés ou par contact direct avec les animaux (Pillet et al., 1975).

➤ **Transmission verticale**

Elle peut se réaliser *in utero* (naissance d'un veau viable mais infecté) ou lors du passage du nouveau né dans la cavité pelvienne. Les jeunes plus résistants se débarrassent généralement de l'infection. L'infection persiste toutefois jusqu'à l'âge adulte chez environ 5 à 10% des veaux nés de mère brucellique, sans susciter de réaction sérologique décelable. Les signes cliniques (avortement éventuel) et la réaction sérologique n'apparaîtront chez les jeunes femelles infectées, qu'à la faveur de la première gestation, voire plus tard (Merial., 2004).

➤ **Transmission horizontale (directe et indirecte)**

Directe: Contacts directs entre individus infectés et individus sains lors de la cohabitation (notamment en période de mise-bas), ingestion, contamination vénérienne.

Indirecte: Par l'intermédiaire des locaux, pâturages, véhicules de transport, aliments, eaux, matériel divers (matériel de vêlage...) contaminés par les matières virulentes.

➤ **Voies de pénétration**

Elles peuvent être cutanées, conjonctivale, respiratoire, digestive et vénérienne.

➤ **Facteurs de sensibilité et de réceptivité**

- Gestation: C'est un facteur important de sensibilité. Une femelle adulte contaminée hors gestation développera dans plus de 50% des cas seulement une infection de courte durée spontanément curable (Merial., 2004).

- Âge: La période de sensibilité maximale est atteinte après le développement complet des organes génitaux (maladie des animaux pubères). Les animaux pubères peuvent rester infectés pendant toute leur vie, malgré la réponse immunitaire qu'ils développent. Les jeunes, en

revanche guérissent souvent de leur infection et ne développent qu'une réaction sérologique discrète et transitoire.

➤ **Synthétique**

Les causes les plus fréquentes de la contamination d'un cheptel indemne sont l'introduction d'un animal infecté inapparent et les "contaminations de voisinage" (animaux et milieu contaminé). La contamination de l'environnement (locaux d'élevage, pâturages...) et la conservation de jeunes femelles nées de mère infectée.

4. Diagnostic

Le diagnostic est un ensemble de moyens permettant de confirmer l'origine d'une infection. Ces moyens sont variés et se traduisent soit par un diagnostic direct, soit par un diagnostic indirect.

Le diagnostic direct met en évidence la bactérie ou ses constituants. Les méthodes de biologie moléculaire font partie des techniques de diagnostic direct.

Le diagnostic indirect de la brucellose peut faire appel à plusieurs techniques sérologiques et peut être réalisé à partir du sérum et/ou du lait essentiellement.

a. Diagnostique bactériologique

La recherche directe de *Brucella Spp.* est basée sur la culture et l'isolement sur milieu sélectif. La durée d'incubation, la culture en aérobiose ou en anaérobiose, l'aspect des colonies, la présence d'hémolyse et l'antibiogramme sont ainsi pris en compte pour cette identification.

L'isolement de *Brucella Spp* est fait à partir de tissus ou de fluides biologiques.

En brucellose humaine, divers prélèvements correspondant à des sites de localisation de *Brucella* peuvent être mis en culture, tels que des prélèvements de la moelle osseuse, du liquide cébrospinal ou encore de pus. Mais la recherche de *Brucella* se fait essentiellement à partir du sang du patient (hémoculture).

En brucellose animale, les sécrétions vaginales, l'enveloppe fœtale lors d'avortement, le sperme, l'urine ou le lait représentent un bon matériel biologique de départ pour la recherche de *Brucella* sur des milieux de culture sélectifs. L'addition d'antibiotiques appropriés aux milieux de culture permet d'éliminer d'éventuels contaminants présents dans les prélèvements biologiques. L'incubation est faite à 37°C en absence ou en présence de 5% de CO₂.

b. Diagnostique moléculaire:

Le diagnostic moléculaire le plus utilisé est la technique de Polymerase Chain Reaction (PCR). Depuis quelques années, l'utilisation de la technique de PCR en temps réel dans le diagnostic de la brucellose se multiplie (Newby et al., 2003).

En 1990, le premier diagnostic direct par PCR pour la détection du genre *Brucella* a été mis au point, basé sur le gène *omp43* de *B. abortus* S19 (Fekete et al., 1990). Les auteurs démontrent que le test est spécifique. En 1992, une nouvelle PCR basée sur le gène *bcs31* codant une protéine de surface de 31 kDa (BCSP31 pour *Brucella* Cell Surface Protein) est testée par Baily et collaborateurs (Baily et al., 1992). Les auteurs montrent que ce test spécifique de *B. melitensis* et de *B. abortus*.

La PCR en temps réel, qui a l'avantage de présenter une meilleure spécificité qu'une PCR conventionnelle grâce à l'utilisation d'une sonde, est maintenant très utilisée pour la détection du genre *Brucella* (Bogdanovich et al., 2004).

La plupart des analyses par PCR sont encore basées sur le gène *bcs31* malgré son manque de spécificité, considérant que les infections à *Ochrobactrum anthropi* sont rares et facilement distinguables de la brucellose (Bricker., 2002). En brucellose humaine, chez les patients atteints de brucellose, divers supports peuvent être utilisés pour la détection de *Brucella* : urine, liquide synovial, pus d'abcès, liquide cérébro-spinal, tissu osseux, etc. (Queipo-Ortuño et al., 2006; Morata et al., 1998).

Mais, les deux principales matrices utilisées en PCR sont le sang et le sérum (Zerva et al., 2001; Queipo-Ortuño et al., 1997; Navarro et al., 2002). Néanmoins, il semblerait que le sang entier soit un support moins approprié, du fait des effets inhibiteurs des molécules d'hème et des fortes concentrations en ADN de leucocytes (Zerva et al., 2001; Morata et al., 1998). Lors du diagnostic de la brucellose animale par la technique de PCR, le choix des tissus est plus approprié. Ainsi, la PCR à partir de différents produits biologiques a été décrite : de sang (Guarino et al., 2000; Leal-Klevezas et al., 1995), de lait (Hamdy et al., 2002), de sécrétion nasale (Sreevatsan et al, 2000), de rate (Gallien et al, 1998), de sperme (Manterola et al., 2003; Amin et al., 2001), de ganglions lymphatiques (O'Leary et al., 2006) et de fœtus avorté (Fekete et al., 1992; Leyla et al., 2003). La difficulté majeure provient de la présence possible d'inhibiteurs de PCR et/ou d'une quantité trop importante d'ADN pouvant interférer sur la PCR selon l'origine des échantillons.

c. **Diagnostic sérologique**

Les tests sérologiques font intervenir des suspensions antigéniques de cellules entières inactivées de *B. abortus* et le sérum suspect. Les anticorps détectés sont alors pour la plupart, spécifiques d'épitopes portés par le lipopolysaccharide (LPS) et certaines protéines membranaires. Il existe plusieurs tests sérologiques dont les plus connus sont les suivants:

- Le test de Wright détecte les anticorps du sérum (IgG2 et IgM) qui permettent l'agglutination des cellules de *Brucella*. Dans la majeure partie des cas, ce test ne permet pas de dépister l'infection chronique.
- Le test de fixation du complément met en évidence, une fois liés à leur antigène, les anticorps (IgG1 et IgM) fixant le complément. Ce test quantitatif est très sensible.
- Le test au Rose Bengale est un test qualitatif rapide d'agglutination sur lame. Il met en évidence les anticorps sériques agglutinants (IgG1 et IgM). Ce test est plus sensible et plus spécifique que le test de Wright. Le test au Rose Bengale est surtout utilisé comme test de dépistage de masse et confirmé par un test de fixation du complément ou par dosage d'immunosorption lié à l'enzyme (ELISA).
- L'ELISA utilise comme antigène le LPS. Ce test est équivalent au test de fixation du complément en termes de sensibilité et de spécificité. Il peut être réalisé sur des sérums ou sur des laits dans les cheptels laitiers.
 - L'épreuve de l'anneau (ou ring-test) permet de mettre en évidence les anticorps (IgA principalement) présents dans le lait de l'animal. L'épreuve de l'anneau peut être utilisée pour le dépistage des troupeaux laitiers infectés car elle est pratique, rapide et peu coûteuse. Son désavantage est le nombre élevé de réactions douteuses dues à une faible sensibilité et nécessitant alors une confirmation par ELISA.

IV. METHODOLOGIE

1. Cadre d'étude

La présente étude s'inscrit dans le cadre de la Sécurité Sanitaire des Aliments (SSA) et des Dénrées Alimentaires d'Origine Animale (DAOA) du projet Safe Food Fair Food (SFFF). Elle a été initiée par l'International Livestock Research Institute (ILRI) en collaboration avec le Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) en Cote d'Ivoire. Le choix de ce sujet se justifie par le fait que le tiers de la population mondiale d'aujourd'hui souffre de maladie d'origine alimentaire. Chaque année, environ 1,5 milliards de cas de diarrhée dus essentiellement aux aliments de mauvaise qualité sont enregistrés entraînant 2,2 millions de morts (Bonfoh et al., 2010). Cette étude s'est déroulée dans la Commune Rurale de Cinzana sur 15 mois (Mai 2009 à Juillet 2010).

2. Zone d'étude

a. Critères de choix et justification des villages retenus

Les critères de choix étaient basés sur:

- 1) l'accessibilité de la zone;
- 2) l'importance des effectifs bovins et caprins;
- 3) l'importance de la production laitière et de sa commercialisation
- 4) l'existence du projet d'Appui à la Filière Laitière de Cinzana (PAFLACIN).

Au début de la présente étude, le PAFLACIN encadrait 6 villages dont 3 de la commune de Cinzana. Le nombre total de villages de la commune est de 72, et ce nombre a été divisé par 6 pour obtenir le nombre de village concernés par la présente étude. Ce calcul a donné 12 villages. Les 3 villages encadrés par PAFLACIN ont été entièrement retenus. Tandis que les villages non encadrés par PAFLACIN ont été retenus par tirage au sort.

b. Présentation

L'étude a été réalisée pendant une période de 15 mois (Mai 2009 à juillet 2010) dans la commune rurale de Cinzana. La Commune Rurale de Cinzana a été créée par la loi 96-059 du 04 novembre 1996 suite à l'avènement de la décentralisation. Elle compte 72 villages avec une population de 36.440 habitants (RGPH., 2009). Elle est située à 37 km au Sud – Est de la ville de Ségou sur la route Nationale N°6. La commune rurale de Cinzana couvre une superficie de 1 100 km². Elle est limitée à l'Ouest par les Communes de Saminé, Sakoïba et

Pelengana à l'Est par la Commune de Katièna, au Nord par les Communes de Boussin et Diouna et au Sud par le fleuve Bani qui la sépare de la commune de Touna (Figure 3).

Sur les 72 villages de la commune, 12 villages ont été retenus pour l'étude sur la base de certains critères ci-dessus définis.

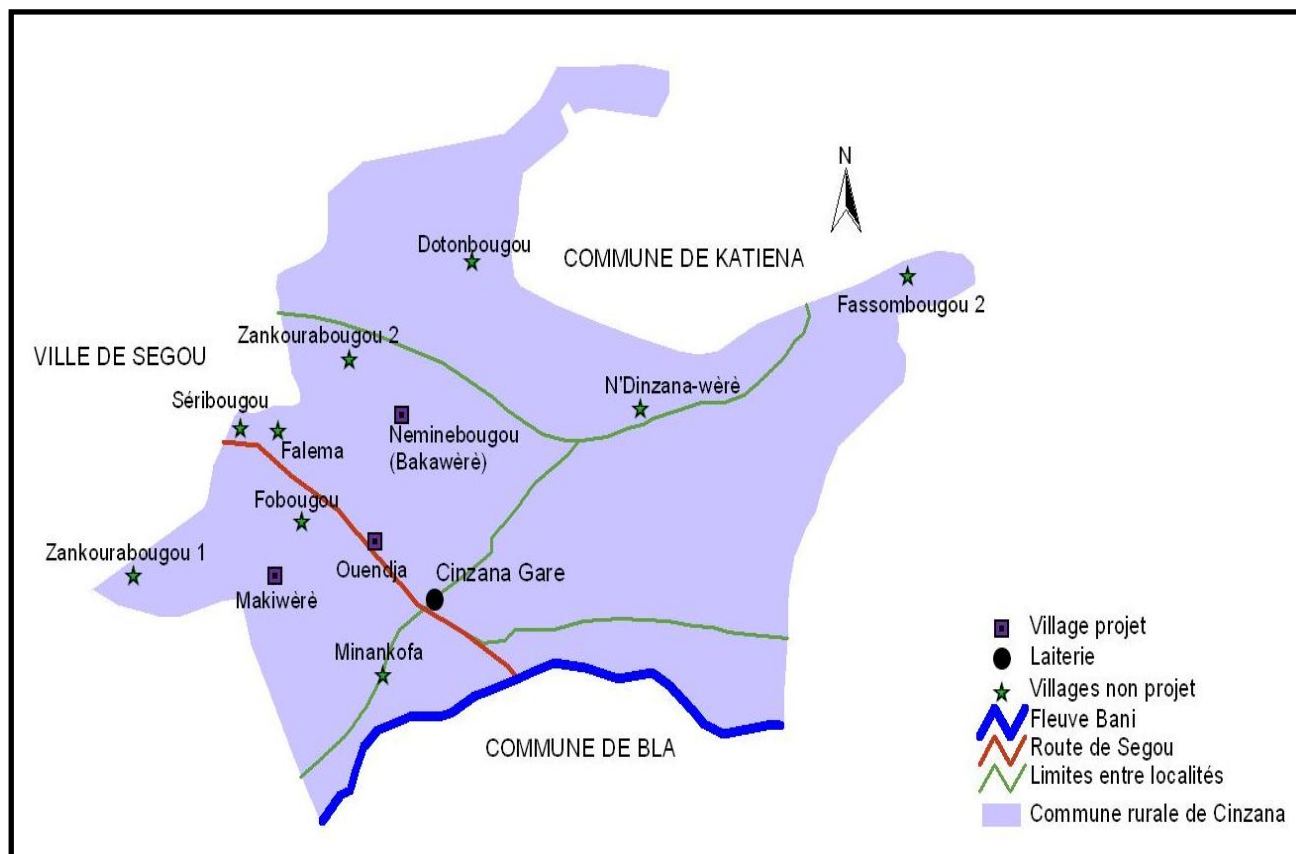


Figure 3 : Carte de la commune rurale de Cinzana montrant les villages d'étude.
(Document de terrain, 2010).

3. Méthodes

Diverses méthodes ont été utilisées au cours de cette étude pour répondre aux objectifs fixés. Il s'agit de :

a. Approche participative

Cette méthode s'est basée sur le focus groupe couplé avec des interviews de questions semi-ouvertes lors des assemblées générales dans les villages. Cette méthode permettait de regrouper dans chaque village le chef de village, les chefs de famille et les éleveurs et cela dans le but de:

- ✓ déterminer le nombre de familles dans chaque village qui sert à calculer la taille de l'échantillon du troupeau par village;
- ✓ déterminer les activités principales du village;
- ✓ déterminer les espèces dont le lait est consommé. Ces espèces sont concernées par l'étude,
- ✓ déterminer les us et coutumes par rapport à la consommation du lait;
- ✓ identifier les symptômes les plus fréquents chez les espèces dont le lait est consommé;
- ✓ déterminer le mode d'élevage et de gestion du troupeau.

b. Echantillonnage

L'échantillonnage a porté sur le lait de vache et de chèvre en se basant sur les résultats de l'approche participative, ainsi que des sérums humains, de vache et de chèvres.

La taille de l'échantillon des troupeaux bovins et caprins de chaque village a été calculée en fonction du nombre de familles dans le village. L'approche participative a montré que le troupeau caprin est familial dans tous les villages, par contre le troupeau bovin est généralement communautaire ou individuel dans des rares cas. Puisque le nombre de troupeaux bovins n'atteint pas le nombre de familles dans les villages, le nombre maximum disponible de troupeaux bovins est entièrement pris.

La taille des humains a été calculée à partir du nombre de personnes dans le village.

La formule suivante a été utilisée pour calculer la taille totale de l'échantillon de chaque espèce animale et des humains.

$$N = (Z/d)^2 * [(Se * P) + (1 - Sp) * (1 - P)] * [(1 - Se * P) - (1 - Sp) * (1 - P)] / (Se + Sp - 1)^2.$$

$$n = 1 / (1/n' + 1/N).$$

Se= Sensitivité du rose Bengale ; Sp= Spécificité de l'ELISA ;

P= Prévalence.

Avec $Z=1,96$ et $d=0,05$

Prévalence bovins : 48,20% troupeaux

Prévalence caprins : 4% troupeaux

Prévalence humaine en milieu rural : 24,40% (Tasei et al., 1982)

n' =nombre de familles

N =résultat formule 1

Bovins

La sensibilité du rose Bengale est 72.2% (Portanti et al., 1997) avec une spécificité de l'ELISA de 99.9% (Vanzini et al., 2001). Ainsi :

$$N1 = (1.96/0.05)^2 * ((0.722*0.482) + (1-0.999)*(1-0.482)) * ((1-0.722*0.482) - (1-0.999)*(1-0.482)) / (0.722+0.999-1)^2 = 671.1685$$

$$n1 = 1 / (1/n' + 1/N) = 1 / (1/287 + 1/672) = 201.1095$$

Nombre total de troupeaux=202

Caprins

$$N2 = (1.96/0.05)^2 * ((0.722*0.04) + (1-0.999)*(1-0.04)) * ((1-0.722*0.04) - (1-0.999)*(1-0.04)) / (0.722+0.999-1)^2 = 85.57439$$

$$n2 = 1 / (1/n' + 1/N) = 1 / (1/287 + 1/86) = 66.17158$$

Nombre total de troupeaux=66

Humain

La sensibilité du Rose Bengale est 92.9% (Ruiz-Mesa, 2005) avec une spécificité de l'ELISA de 99.9% (Portanti et al., 1997).

$$N3 = (1.96/0.05)^2 * ((0.929*0.244) + (1-0.999)*(1-0.244)) * ((1-0.929*0.244) - (1-0.999)*(1-0.244)) / (0.929+0.999-1)^2 = 313.5194$$

Nombre total de personnes à prélever=314

Formule utilisée pour calculer la taille des espèces animales de chaque village

Espèces animales: $NFV/NTF \times NTT$

NFV = nombre de famille dans le village

NTF = nombre total de famille dans les 12 villages

NTT = nombre total de troupeaux

Formule utilisée pour calculer la taille des échantillons humains

Humains: $NPV/NTP \times 314$

NPV= nombre de personne dans le village

NTP= nombre total des personnes dans les 12 villages

Tableau 2 : Taille calculée par village et taille obtenue

Village	Troupeaux bovins		Troupeaux caprins		Humains	
	Calculé	Obtenu	Calculé	Obtenu	Calculé	Obtenu
Bakawêrê	6	5	2	3	8	10
Oundia	25	4	8	10	25	24
Makiwêrê	7	2	2	2	11	11
Falema	11	5	3	9	28	32
Séribougou	15	7	5	6	23	26
Foabougou	21	2	7	7	33	21
Zankourabougou I	15	4	5	5	26	22
Zankourabougou II	21	3	7	7	41	18
Fassombougou II	14	2	5	6	32	19
Dotombougou	15	5	5	6	24	6
Minankofa	37	5	12	12	30	1
Bougoukoura	15	4	5	4	32	23
Total	202	48	66	77	314	213

➤ **Prélèvement de lait**

Les échantillons de lait sont prélevés à partir du lait de troupeau individuel à la ferme pour les vaches et à la maison pour les chèvres dans des tubes stériles conservés au froid jusqu'au laboratoire.

➤ **Prélèvement de sang**

Animal

Le dépistage sérologique est pratiqué à partir de prélèvement sanguin réalisé individuellement sur cinq femelles laitières du troupeau de chaque espèce (vache et chèvre) prises au hasard. C'est-à-dire sans critères prédéfinis dans le troupeau retenu. Le

sang est prélevé à la veine jugulaire dans des tubes rouges sans anticoagulant et sous vide.

Humain

Les personnes en contact direct (personnes chargées de la traite, bergers...) avec les caprins et bovins et celles consommant quotidiennement le lait de ces espèces sont identifiées dans la famille en vue du prélèvement sanguin. Le prélèvement est fait par un personnel du Centre de Santé de Cinzana sur le nombre (taille de l'échantillon) de personnes volontaires dans la famille dont le troupeau a été échantillonné.

Tous les tubes de sang (humain, bovin et caprin) sont conservés à l'ombre dans un portoir pendant au moins deux heures. Ils sont ensuite centrifugés à 1500 tours pendant 2-4 minutes. Les sérums sont ensuite recueillis dans des tubes eppendorf et conservés au frais jusqu'au laboratoire.

➤ Pour la détermination de l'exposition à d'autres sources, un questionnaire est aussi adressé aux personnes soumises au prélèvement pour recueillir des informations relatives à l'hygiène observé en cas d'avortement, au type de contact avec les espèces animales.

a. Analyses de laboratoire

➤ Sérologie

- Le test à l'anneau

Après avoir mélangé soigneusement le lait pour disperser la crème, 1 ml du lait est prélevé et mis dans un tube. Une goutte (30 µl) de l'antigène coloré est ajoutée au lait puis mélangé.

Le tube est incubé à 37°C pendant une heure. La lecture du résultat est faite en utilisant une source lumineuse uniforme. La réaction est considérée positive s'il y a formation d'anneau bleu à la surface du lait, au cas contraire elle est considérée comme négative.

- L'épreuve à l'antigène tamponné au Rose Bengale (EAT au RB)

Tous les sérums (humain, vache, chèvre) récoltés ont été soumis à ce test. Il consiste à mettre en contact 30 µl (microlitre) de sérum avec une goutte (30 µl) de rose Bengale (antigène). L'ensemble est mélangé, la plaque est remuée pendant au moins quatre minutes. La présence de grumeaux indique une réaction positive par contre son absence indique une réaction négative.

- L'épreuve à l'antigène tamponné au Rose Bengale par dilution

Cette épreuve concerne seulement les sérums humains positifs à l'EAT au RB confirmés positifs aussi à l'ELISA. Elle consiste à mettre en évidence si la personne a fait la maladie ou

s'il y a eu seulement le contact. La dilution du sérum se fait par le liquide physiologique (liquide de Ringer). Cette réaction est positive quand elle est $\geq 1/8$ c'est à dire une infection.

- Test d'ELISA

Les sérums positifs ou douteux à l'EAT au RB sont testés à l'ELISA car ce test est spécifique. Il repose sur le principe antigène-anticorps couplé à l'enzyme à la différence avec les autres tests, on utilise un anticorps anti espèce coloré pour révéler le résultat de la réaction (voir le mode opératoire en annexe N° 2).

b. Analyse statistique

Cette étude s'est limitée à la statistique descriptive et plus précisément à la moyenne. Les données ont été enregistrées dans le logiciel Microsoft Excel 2003.

V. RESULTATS

1. Résultats de l'approche participative

Les résultats de l'approche participative montrent que l'élevage demeure encore une activité largement traditionnelle. Il s'agit là d'un élevage de type traditionnel fortement tributaire des ressources naturelles et des résidus de récolte.

Après la récolte, les animaux sont en divagation dans les champs et les bovins reviennent autour des villages. Avant que ces résidus de récolte ne prennent fin, certains troupeaux de bovins vont en transhumance dans la région de Sikasso (Mali sud).

Les résultats montrent aussi que les espèces bovine, ovine et caprine sont les plus élevées. Ces espèces servent d'épargne, produisent de la fumure organique pour les champs et du lait. En ce qui concerne le lait, le lait de brebis (espèce ovine) n'est pas consommé pour des raisons culinaires. La gestion des troupeaux varie d'une espèce à une autre. Dans les villages encadrés par PAFLACIN, les troupeaux bovins et caprins sont généralement gérés par les chefs de famille pour avoir la main mise sur le revenu du lait. Dans les villages non encadrés, la gestion du troupeau varie selon qu'il s'agisse de la vente d'une ou des tête(s) ou de la vente du lait. Généralement, c'est le chef de famille qui décide de la vente ou du sacrifice, mais le lait est généralement géré par les femmes. La vente d'un caprin concerne généralement les mâles excédentaires et les femelles âgées ou non productives. La vente d'un bovin indique un problème majeur ou un besoin d'argent très important.

Le troupeau bovin est collectif dans tous les villages sauf à Bakawêrê, à Zankourabougou II et à Minankofa où il est individuel. Le cas de Bakawêrê s'explique par leur ethnie (Djawambés cousins peuls) et leur culture. C'est-à-dire naturellement éleveurs. Celui de Minankofa (village Bobo) s'explique aussi par leur ethnie car ils sont naturellement des agriculteurs et l'élevage de bovin est fonction des moyens. Le troupeau bovin est individuel à Zankourabougou II (village Bambara) car il est signe de prestige. Dans les troupeaux collectifs, le lait de chaque propriétaire lui revient. Le lait de vache est consommé dans tous les villages sous plusieurs formes (cru et fermenté).

Le troupeau caprin est familial dans tous les villages et chaque famille en possède quelque soit la taille. Le lait de chèvre est consommé sous diverses formes (cru, fermenté) dans tous les villages sauf à Minankofa et à Bougoukoura pour des raisons culinaires. A Oundia, Fassombougou II, et à Foabougou le lait cru de chèvre n'est pas consommé par les enfants sans être chauffé car on pense dans ces villages que le lait cru de chèvre est responsable du paludisme des enfants.

Le lait des villages encadrés par PAFLACIN (Makiwêrê, Bakawêrê et Oundia) est collecté chaque matin par la coopérative du village et acheminé directement à la laiterie par le livreur doté d'une moto après soustraction de la quantité autoconsommée par la famille. Au début, le lait de vache et de chèvre était livré séparément à la laiterie. Actuellement il est mélangé car en saison sèche chaude la quantité produite diminue fortement dans ces villages. Donc dans ces villages, le circuit de commercialisation est l'unité laitière de Cinzana (PAFLACIN) où le lait est chauffé à 80°C pendant 15 minutes et vendu.

Dans les villages non encadrés, le circuit de commercialisation (vente du lait vers d'autres villages) a été identifié à Séribougou et à Fassombougou II. A Séribougou le circuit de vente est vers Ségou car collecté et acheté chaque matin par une personne venue de cette ville.

Le circuit de commercialisation identifié à Fassombougou II est hors de la commune de Cinzana car le lait est dirigé vers N'golobala (3-4 km) par les femmes à pieds, où les jours de foire de Djoro (vendredi) et à Boussin (Mardi) à charrette, à pieds ou par véhicule (transport en commun).

La majorité des avortements est constatée en période de soudure (fin saison sèche chaude et début d'hivernage) chez les chèvres et chez les vaches. Les bonnes pratiques d'hygiène sont peu observées dans les élevages.

2. Résultats issus des questionnaires administrés aux éleveurs

Au cours de cette étude, 101 éleveurs ont répondu au questionnaire. Sur les 101 éleveurs, 55 (54,5%) possèdent des vaches et des chèvres à la fois et 45 (44,5%) possèdent des chèvres et un (1%) possèdent seulement des vaches. Le tableau 3 montre que 60% des éleveurs utilisent des bergers salariés pour les troupeaux de vaches et 43,2% pour les chèvres. Dans 34% des élevages de vaches et 55,5% de ceux de chèvres, les enfants s'occupent de faire paître les animaux. Un faible pourcentage d'éleveurs utilise des membres de leur famille, c'est-à-dire des personnes non fixes.

Tableau 3: Statut des personnes qui s'occupent des troupeaux (en %).

Statut de personne	Vache	Chèvre
Berger salarié	60	43,2
Enfant désigné par le chef de famille	34	55,5
Famille (personne non choisie)	6	1,23

Le tableau 4 donne le statut des personnes qui s'occupent de la traite des vaches et des chèvres. Ce statut change en fonction des espèces.

Tableau 4: Statut des personnes chargées de la traite (en %).

Statut de personne	Vache	Chèvre
Berger et enfant ensembles	14	0
Berger ^x	56	3,7
Chef de famille	4	1,23
Enfant	26	6,17
Femme du chef de famille	0	6,17
Femmes	0	16,04
Femme et enfant	0	56,79
Fille	0	2,46
Pas de traite	0	6,74

^x Personnes hors de la famille recrutée pour conduire les animaux.

L'analyse du tableau 5 montre que les laits de vaches et de chèvres sont tous consommés. Ce même tableau montre que 55,4% des éleveurs produisent du lait pour la vente et l'autoconsommation alors que 42,6 % produisent du lait uniquement pour l'autoconsommation; 1,98% ont leur vente liée aux besoins.

Tableau 5: Devenir du lait (en %).

Devenir du lait	Vache/Chèvre
Consommation	42,57
Vente et consommation	55,44
Vente liée aux besoins	1,98

Le tableau 6 montre que la quantité de lait consommé par famille et par jour varie d'un village à un autre. La plus grande quantité consommée par famille est observée à Fassombougou II avec 2,17 litres et la plus faible est à Minankofa avec 0,34 litre. Ce même tableau montre que le village de Bakawêrê est le plus grand vendeur en nombre d'éleveur (100%) et en quantité avec 5,79 litres par éleveur, et le village qui vend la plus petite quantité est Minankofa. On note que le village de Minankofa a le pourcentage le plus faible en nombre de vendeurs de lait.

Tableau 6: Consommation et vente de lait

Villages	Consommation moyenne/famille/jour (litre)	Quantité moyenne vendue/éleveur/jour (litre)	%d'éleveurs qui vendent le lait	Lieu de vente
Bakawêrê	2	5,79	100	PAFLACIN
Oundia	0,75	1,41	66	PAFLACIN
Makiwêrê	1,25	3,57	85,7	PAFLACIN
Falema	1,7	1,34	77,7	Sur place
Séribougou	1,45	1,25	85	Vers Ségou
Foabougou	1,35	2,21	71,4	Sur place
Zankourabougou I	1,58	0,83	55,5	Sur place
Zankourabougou II	1,41	0,34	44	Sur place
Fassombougou II	2,17	1,56	37,5	Hors Cinzana
Dotombougou	1,57	1,13	33,3	Sur place
Minankofa	0,34	0,2	10	Sur place
Bougoukoura	0,65	0,4	40	Sur place

Le tableau 7 indique sous quelle forme le lait est consommé par la famille de l'éleveur. Il montre que 70,3% du lait sont consommés sous forme crue et fermenté, 20,8% sous forme fermenté et 7% sous forme crue.

Tableau 7: Etat de lait consommé (en %).

Etat de lait	Vache/Chèvre
Cru/fermenté	70,29
Cru	7
Cru/fermenté/bouilli	0,99
Fermenté	20,79
Cru (chauffé pour les enfants)	0,99

3. Résultats des questionnaires individuels administrés

Un questionnaire a été aussi administré aux personnes soumises au prélèvement. Il a concerné 213 personnes dont les facteurs de transmission comme le mode de consommation, le type de contact et la manipulation d'avorton sont consignés dans le tableau 8.

Ce tableau 8 montre que 72,76% des personnes affirment avoir manipulé l'avorton caprin, 6,10% l'avorton bovin et 11,26% ont manipulé à la fois l'avorton des espèces bovine et caprine. Ce même tableau montre que 9,38% seulement des personnes soumises au prélèvement ne sont pas exposées au risque lié à la manipulation des avortons.

Le même tableau indique que 98,1% des répondants consomment du lait sans être chauffé.

Le contact qui est un facteur de transmission de la brucellose est aussi consigné dans le tableau 8 avec différent pourcentage.

Tableau 8 : Facteurs de risque à la brucellose

Variables	Total	Séropositifs	
		n	%
Total	n	n	%
Manipulation avorton			
Non	20	0	0
Oui/Espèce	193	1	0,5
Caprine	155	0	0
Bovine	13	1	7,69
Bovine/caprine	24	0	0
Ovine/caprine	1	0	0
Mode de consommation			
Cru	209	1	0,47
Chauffé	4	0	0
Type de contact			
Berger	9	0	0
Entretien/traité	21	1	4,76
Auxiliaire vétérinaire	5	0	0
Autres	7	0	0

4. Renseignements sur les femelles soumises au prélèvement

Au cours des prélèvements de sang sur les vaches et les chèvres, des renseignements sur l'âge, le rang de portée et le nombre d'avortements ont été enregistrés. Ces renseignements donnent des résultats consignés dans le tableau 9.

Le tableau 9 indique que 12,25% des vaches ont avorté une fois, 1,47% deux fois et 86,27% n'ont pas fait d'avortement. Pour ce qui concerne les chèvres, 27,22% ont fait un avortement, 4,2% ont fait deux avortements, 1% a fait trois avortements et 67,57 % n'ont pas avorté.

Tableau 9 : Renseignements obtenus sur les femelles soumises au prélèvement (en %)

Nombre d'avortement	Vache	Chèvre
1 fois	12,25	27,22
2 fois	1,47	4,2
3 fois	0	1
Pas d'avortement	86,27	67,57

5. Résultats d'analyse des échantillons de lait

Le tableau 10 indique les résultats d'analyse des échantillons de lait au ring test. Sur les 34 échantillons de lait de vaches testés, deux (2) se sont révélés positifs soit 5,9% et sur les 75 échantillons de lait de chèvres, 1 seulement s'est révélé positif soit 1,33%.

Tableau 10 : Résultats d'analyse des échantillons de lait testés au ring test

Villages	Nombre total de sérums		Nombre de sérums positifs		%	
	Vache	Chèvre	Vache	chèvre	Vache	chèvre
Bakawêrê	6	6	2	0	33,33	0
Falema	7	9	0	0	0	0
Oundia	5	9	0	0	0	0
Séribougou	2	7	0	0	0	0
Zankourabougou I	4	5	0	0	0	0
Zankourabougou II	0	7	0	0	0	0
Foabougou	2	7	0	0	0	0
Dotombougou	1	5	0	0	0	0
Fassombougou II	2	6	0	1	0	16,66
Minankofa	3	3	0	0	0	0
Bougoukoura	2	5	0	0	0	0
Makiwêrê	2	6	0	0	0	0
Total	34	75	2	1	5,88	1,33

6. Résultats d'analyse des sérums testés au rose Bengale

Au cours de cette étude, 204 sérums de vache ont été obtenus sur 48 troupeaux, 404 sérums de chèvre sur 77 troupeaux et 213 sérums humains. Tous les sérums ont été testés à l'EAT au RB. Les tableaux 11 et 12 donnent respectivement les résultats sérologiques des espèces animales et des personnes.

Sur les 204 sérums de vache, deux (2) sérums se sont révélés positifs soit 0,98% sur l'ensemble et 8 % dans le village de Bakawêrê.

Sur les 404 sérums de chèvres, trois (3) se sont révélés positifs soit 0,74% sur l'ensemble et 16,6% dans le même village de Fassombougou II.

Pour ce qui concerne les humains, deux (2) sérums humains se sont révélés positifs sur les 213 testés soit 0,93% sur l'ensemble et 20% dans le village de Bakawêrê.

Tableau 11: Résultats d'analyse par village des sérums de vache et de chèvre testés au rose Bengale.

Villages	Nombre total de sérums		Nombre de sérums positifs		% positif	
	Vache	Chèvre	Vache	chèvre	Vache	chèvre
Bakawêrê	25	15	2	3	8	20
Falema	20	48	0	0	0	0
Oundia	16	46	0	0	0	0
Séribougou	28	32	0	0	0	0
Zankourabougou I	20	25	0	0	0	0
Zankourabougou II	15	35	0	0	0	0
Foabougou	8	35	0	0	0	0
Dotombougou	25	36	0	0	0	0
Fassombougou II	8	31	0	1	0	16,6
Minankofa	17	58	0	0	0	0
Bougoukoura	15	28	0	0	0	0
Makiwêrê	7	15	0	0	0	0
Total	204	404	2	3	0,98	0,74

Tableau 12: Résultats d'analyse par village des sérums humains testés au rose Bengale.

Villages	Nombre total de sérums	Nombre de sérums positifs	%positif
Bakawêrê	10	2	20
Falema	32	0	0
Oundia	24	0	0
Séribougou	26	0	0
Zankourabougou I	22	0	0
Zankourabougou II	18	0	0
Foabougou	21	0	0
Dotombougou	6	0	0
Fassombougou II	19	0	0
Minankofa	1	0	0
Bougoukoura	23	0	0
Makiwêrê	11	0	0
Total	213	2	0,93

Le tableau 13 récapitule le nombre total de sérums testés au RB. Il montre une prévalence faible ($\leq 1\%$) quelle que soit l'espèce concernée. En effet, sur les 204 sérums de vache testés, seulement 2 se sont révélés positifs; 3 positifs sur les 404 sérums de chèvre testés et 2 sur les 213 sérums humains testés.

Tableau 13: Récapitulatif des résultats d'analyse de sérums testés au Rose Bengale.

Espèces	Nombre total de sérums	Nombre de sérums positifs	
		N	%
Vache	204	2	0,98
Chèvre	404	3	0,74
Humain	213	2	0,93
Total	821		

7. Résultats d'analyse des sérums testés à l'ELISA

Le tableau 14 donne le nombre de sérums positifs au RB testés à l'ELISA. Seuls les sérums positifs à l'EAT au RB ont été testés à l'ELISA. Comme l'indique le tableau 14, les deux (02) sérums de vaches et les trois(03) sérums de chèvres positifs se sont révélés tous négatifs à l'ELISA soit une prévalence de 0%. En revanche, sur les deux (02) sérums humains positifs au rose Bengale, un (01) sérum a été positif à l'ELISA soit une prévalence de 50% sur les sérums positifs au rose Bengale soit 0,46% sur l'ensemble des sérums humains.

Tableau 14: Résultats d'analyse des sérums positifs au Rose Bengale testés à l'ELISA

Espèces	Nombre total de sérums	Nombre de sérums positifs N	%
Vache	2	0	0
Chèvre	3	0	0
Humain	2	1	50
Total	7		

Le tableau 15 donne le nombre total de sérums testé, et la prévalence en fonction de l'ELISA. Il montre que seule la brucellose humaine a été confirmée à partir des sérums testés.

Tableau 15: Résultats d'analyse des sérums testés à l'ELISA.

Espèces	Nombre total de sérums	Nombre de sérums positifs N	%
Vache	204	0	0
Chèvre	404	0	0
Humain	213	1	0,46
Total	821		

VI. DISCUSSION

Des méthodes de diagnostic sérologique ont été utilisées au cours de cette étude pour révéler l'existence de l'infection à *brucella Spp.* Ces méthodes ont été le test à l'anneau, l'EAT au RB, l'ELISA indirect et l'EAT au RB par dilution. Il est possible d'évaluer le risque de la brucellose en utilisant le lait pour sa caractérisation (Bonfoh et al., 2004), l'EAT au RB peut servir au diagnostic des troupeaux infectés (Tounkara et al., 1994) et l'ELISA comme test de confirmation avec une sensibilité de 100% (Wright et al., 1990) et une spécificité de 99,9% (Portanti et al., 2006).

Cette étude a donné une prévalence globale de 5,9% de brucellose dans le lait cru de vache et 1,3% dans celui de la chèvre. Cette prévalence dans le lait cru de vache est légèrement supérieur à celui obtenu par Bonfoh et al., (2004) en milieu rural qui est de 4%. Ce taux est nettement inférieur à celui de Bamako (zone urbaine) qui est de 30% (Bonfoh et al., 2004).

La présente étude montre que 0,46% des personnes soumises au prélèvement est séropositive à la brucellose. Ce taux est nettement inférieur à ceux rapportés par Tasei et al., (1982) et par Steinmann et al., (2006) qui sont respectivement de 24,4% et 7,7%. Cette différence s'explique par le caractère d'étude. En effet, celle de Tasei et al., (1982) a été menée uniquement auprès des éleveurs alors que celle de Steinmann et al., (2006) a porté uniquement sur les patients fébriles lors de la consultation dans les centres de santé.

En ce qui concerne les facteurs de risque à la brucellose, 0,5% des personnes est séropositive dû à la manipulation d'avorton et 7,69% sont séropositives dues à la manipulation d'avorton bovin. Toujours parmi ces facteurs, 0,47% est séropositive due à la consommation du lait cru (lait sans chauffage préalable). Steinmann et al., (2006) ont trouvé une séroprévalence de 8,7%, 19,4% et 10,5% respectivement chez les personnes consommant le lait, du lait non pasteurisé et d'autres produits laitiers. L'épidémiologie de la brucellose a été éclaircie par la Commission britannique de la fièvre méditerranéenne. Cette commission a établi que l'origine de l'infection humaine était la chèvre de Malte. A cette époque, l'île comptait 20.000 chèvres dont 50% étaient contaminées, 10% donnaient du lait infecté Dès que l'on s'est mis à pasteuriser le lait frais fourni à la garnison de Malte, la fréquence de la maladie chez les soldats diminua de 90%. La maladie était donc bien véhiculée par le lait. Dès lors, on a montré que la contamination directe de l'homme se fait par contact avec des tissus animaux et des sécrétions infectées ou par inhalation de matériel sec pollué.

Fané et al., (2005) ont montré que les brucelles résistent à l'effet de la fermentation jusqu'à un pH de 4 après 6 jours. Cette même étude confirme que la durée de fermentation du lait ne dépasse pas 48 heures sans être consommé

La présente étude montre que 4,76% des personnes en contact (entretien et traite) sont séropositives.

Steinmann et al., (2006) ont trouvé une séroprévalence de 10,2% chez les personnes en contact direct avec les animaux.

La prévalence trouvée dans cette étude chez les espèces bovine et caprine est de 0%, alors que Kané et al.,(1987) (résultats non publiés) ont trouvé sur le plan national une prévalence de 11,4% et 4% respectivement chez les vaches et chez les chèvres.

VII. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Cette étude montre que la prévalence de la brucellose dans le lait cru est faible à Cinzana (milieu rural) par rapport au milieu urbain. Ce qui confirme le taux (0,46%) trouvé chez les personnes. La brucellose humaine illustre un lien entre les brucelloses animale et humaine car l'infection a été constatée par la méthode de dilution dans un village qui a 33,3% de lait de vache positif au test à l'anneau.

Cette étude confirme que le risque de brucellose est moindre en milieu rural. Les pratiques de consommation du lait et d'hygiène dans la commune de cinzana sont des facteurs de transmission de la brucellose.

Au terme de cette étude, nous proposons aux :

- Services vétérinaires de mettre en place un programme national de lutte contre la brucellose.
- Structures techniques d'encadrement (PAFLACIN,...) de sensibiliser les éleveurs sur l'introduction d'un animal dont le statut immunitaire n'est pas connu, et que des mesures nécessaires doivent être prises enfin de contenir la brucellose car l'intensification qui est un facteur d'augmentation du taux de la brucellose risque d'apparaître dans la zone à cause de la présence du PAFLACIN.

ANNEXES

Annexe 1

MODE OPERATOIRE ELISA :

Porter tous les réactifs à température ambiante avant utilisation et bien les homogénéiser par agitation douce ou au vortex.

Incubation courte des échantillons:

- 1- Distribuer 90 µl de solution de lavage CHEKIT dans chaque cupule prévue pour les échantillons et les contrôles.
- 2- Ajouter 10 µl d'échantillon ou de contrôle dans les cupules respectives. Dilution finale=1 :10
- 3- Agiter brièvement la microplaque pour homogénéiser les échantillons (l'utilisation d'un agitateur de microplaque est recommandée).
- 4- Couvrir la microplaque et incuber pendant 60 minutes en chambre humide à 37°C (2°C).

Après incubation:

- 5- Laver trois fois chaque puits avec environ 300 µl de solution de lavage CHEKIT. Aspirer le liquide contenu dans la plaque entre chaque lavage. Après la dernière aspiration consécutive au dernier lavage, éliminer l'eau résiduelle contenue dans les puits par retournement et tapotement de la plaque sur du papier absorbant. Eviter la dessiccation des puits de la microplaque entre les lavages et préalablement à la distribution du prochain réactif.
- 6- Distribuer 100 µl de conjugué CHEKIT-Brucellose-Anti-IgG-Ruminant dans chaque cupule.
- 7- Couvrir la microplaque et incuber pendant 60 minutes (-ou Plus 5 minutes) en chambre humide à 37°C (-ou plus 2°C).
- 8- Répéter étape 5.
- 9- Distribuer dans chaque cupule 100 µl de solution de substrat CHEKIT-TMB
- 10- Incuber à température ambiante (entre 18°C et 25°C) durant 15 minutes.
- 11- Ajouter dans chaque cupule 100 µl de solution d'arrêt CHEKIT-TMB. La distribution de la solution d'arrêt devrait se faire dans le même ordre et à la même vitesse que la distribution du substrat CHEKIT-TMB. L'ajout de la solution d'arrêt CHEKIT dans les cupules conduit à un changement de couleur du substrat de bleu à jaune.
- 12- Les résultats des réactions colorimétriques sont lus sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm

Résultats

Pour la validation de la manipulation, la DO du contrôle négatif ne devrait pas dépasser 0,5. La DO du contrôle positif ne devrait pas dépasser 2,0. La différence entre la DO du contrôle positif et négatif doit être supérieure ou égale 0,3.

La mesure de la densité optique doit impérativement être effectuée dans les 2 heures après arrêt de la réaction.

Calcul:

Calculer la moyenne des valeurs de densité optique (DO des échantillons testés en double.

Les valeurs moyennes de densité optique des échantillons ($DO_{éch}$) et du contrôle positif (DO_{pos}) sont corrigées par soustraction de la valeur moyenne de densité optique du contrôle négatif ($DO_{nég}$):

Contrôle positif: Echantillon: Les valeurs corrigées des échantillons sont exprimées en pourcentage de la valeur corrigée du contrôle positif (fixée 100%):

$$\text{Valeur échantillon(\%)} = \frac{DO_{éch} - DO_{nég}}{DO_{pos} - DO_{nég}} \times 100$$

$$\frac{DO_{pos} - DO_{nég}}{DO_{pos} - DO_{nég}} \quad \frac{DO_{éch} - DO_{nég}}{DO_{pos} - DO_{nég}}$$

Interprétation des résultats:

Interprétation pour les échantillons individuels.

Valeur échantillon	Inférieur à 80%	Supérieur ou égal
Interprétation	Négatif	Positif

Annexe 2

Protocole pour la préparation de Brucella Agar sélectif (marque OXOID)

Suspendre 22,5 g du milieu de Brucella Agar dans 500 ml d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50 ° C le mieux dans un bain marie.

Reconstituer les antibiotiques

1 x 1 x ou SR0035 SR0209

Ajouter 5 ml d'éthanol et 5 ml d'eau distillée.

Incuber pendant 10-15 minutes à 35 ° C.

Ajouter 25 ml de 5% de Sérum de cheval inactivé (Sérum de cheval tenue à 56 ° C pendant 30 minutes). Bien mélangé.

Ajouter aux antibiotiques pour milieu Brucella Agar avec Sérum de cheval (refroidi à 50 ° C)

Bien mélanger et verser dans des boîtes de Pétri stériles (environ 25 boîtes de Pétri)

Laisser refroidir à température ambiante. Mais conserver les boîtes de Pétri à 2-8 ° C.

Test de stérilité :

Incuber 2 boîtes de pétri pour 2 jours à 35 ° C.

Compositions

Code: CM0169

Typique GM * Formule / litre

Peptone 10,0

«Lab-Lemco» poudre 5,0

Glucose 10,0

Le chlorure de sodium 5,0

Agar 15,0

pH 7,5 ± 0,2 à 25 ° C

SUPPLEMENTS BRUCELLA SELECTIVE

contenu du flacon (chaque flacon est suffisant pour 500 ml de milieu) Code: SR0083 Code: SR0209

Polymyxine B 2.500 UI 2500 UI

Bacitracine 12.500 UI 12.500 UI

Cycloheximide 50 mg

L'acide nalidixique 2,5 mg à 2,5 mg

Nystatin 50000 UI 50000 UI

Vancomycine 10 mg à 10 mg

Natamycine 25 mg.

Annexe 3
Questionnaire pour éleveur

EXPLOITANT : **code (N°)** _____/

NOM: _____/PRENOM _____/SEXE : ___/AGE : ____/ETHNIE : _____/

VILLAGE _____/

Statut matrimonial : _____/

Activité Principale : _____/

Niveau d'instruction : _____/

ESPECES ELEVEES :

Vaches :

Effectif : _____/ Femelle : _____/ Mâle : _____/ (Nombre ou une estimation)

Nbre de femelle en age de reproduction : _____/ Jeunes de 0-1 an : _____/

Qui s'occupe du troupeau bovin? BERGER (salarié) membre de la FAMILLE

AUTRES _____/

ROLE (place dans l'économie de la famille) _____/

Chèvres :

Effectif : _____/ Femelle : _____/ Mâle : _____/ (Nombre ou une estimation)

Nombre de femelle en âge de reproduction : _____/ Jeunes de 0-1 an : _____/

Qui s'occupe du troupeau caprin? BERGER (salarié) membre de la FAMILLE

AUTRES _____/

ROLE (place dans l'économie de la famille) _____/

TYPE D'Elevage : _____/

Mode d'alimentation :

Sur parcours : oui non si oui, quand ? _____/

Fourrage : oui non si oui, quand ? _____/

Utilisez vous du complément : oui non si oui, quand ? _____/

Et quoi ? _____/ Source d'approvisionnement : _____/

Quantité donnée par animal : _____/

PARAMETRES DE PRODUCTIVITE :

Fécondité : _____ (Nombre de mise bas par femelle et par an)

Mortalité des animaux âgés de 0-1 an : _____/ (nombre)

Mortalité des animaux âgés de 1-2 ans : _____/ (nombre)

Mortalité des animaux âgés de 2 ans et plus : _____/ (nombre)

Avortement : _____/(nombre d'avortement sur toutes les gestantes /an).

PRODUCTION :

Lait : oui non

Nombre de femelle en lactation : _____/

Durée de lactation (en mois) : vache _____/ Chèvre _____/

Nombre de traite par jour : vache _____/ Chèvre _____/

QUANTITE MOYENNE DE LAIT PRODUITE PAR ANIMAL ET PAR JOUR:

Vache :

Hivernage _____/ saison sèche froide _____/ Saison sèche chaude _____/

Chèvre :

Hivernage _____/ saison sèche froide _____/ Saison sèche chaude _____/

Hygiène de la traite :

Qui s'occupe de la traite : vache _____/Chèvre _____/

Précautions prises avant la traite : _____/

Récipient de Traite : _____/ de conservation : _____/ De transport : _____/

DEVENIR DU LAIT :

Vente : oui non

Si oui, cru bouilli fermenté autres _____/

La quantité vendue : _____/ le lieu _____/ par quel moyen : _____/

Consommez vous du lait produit : oui non

Si oui, comment: Cru : bouilli : fermenté Autres : _____/

Quantité consommée: _____/

EPIDEMIOLOGIE DE LA BRUCELLOSE ANIMALE:

Connaissez vous la brucellose : oui non

COMMENT RECONNAISSEZ VOUS LA MALADIE : _____/

Si oui, est ce que tes animaux ont été testés à la brucellose : oui non

Si oui, quelle(s) espèce(s) : _____/

Quand: mois: _____/ année _____/

Est-ce qu'il y a eu des cas positifs : oui non

Si oui, le devenir de ses animaux : abattage vente

autres _____/

Si non, Comment confirmez vous la maladie(symptômes) _____/

EPIDEMIOLOGIE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE:

Est-ce que des membres de la famille ont été diagnostiqués à la brucellose ? Oui Non

Si oui, le nombre testé : _____/combien de cas positif : _____/ quand : mois _____/
année _____/

Relation de la personne (positive) avec le troupeau : _____/

Identification des animaux :

Vache n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Vache n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Vache n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Vache n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Vache n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Chèvre n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Chèvre n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Chèvre n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Chèvre n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Chèvre n° _____/ : âge ___/ rang de portée _____/avortement oui ___/ non ___/

Annexe 4

Questionnaire individuel pour humain

NOM: _____/PRENOM _____/SEXE : ___/AGE : ___/ETHNIE : _____/

VILLAGE _____/

Activité Principale: _____/

Niveau d'instruction : _____/

Avez-vous des contacts avec le bétail : Oui Non

Si oui quel genre de contact : _____/

Quelle espèce: _____/ quel troupeau : _____/

Consommez vous du lait : oui non

Si oui, comment : cru fermenté bouilli autres : _____/

Provenance du lait consommé : _____/

Avez-vous manipulé des avortons ? Oui Non

Si oui, quelle espèce : _____/

Connaissez vous la brucellose : oui non

Si oui, comment reconnaissez vous la maladie : _____/

Avez-vous été testé à la maladie ? Oui Non

Si oui, quel a été le résultat : Positif négatif

Avez-vous eu des symptômes suivants: fièvre fatigue douleur articulaire

Sueur nocturne

Si oui, avez-vous consultez un médecin : oui non

Quel a été le diagnostic _____/ et quel a été le traitement : _____/

VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. Amin A.S., Hamdy M.E., Ibrahim A.K., 2001. Détection de *Brucella melitensis* dans le sperme en utilisant la PCR. *Vet. Microbiol.* 22, 37-44.
2. Baily G.G., Krahn J.B., Drasar B.S., et al., (1992). Détection de *Brucella abortus* et *Brucella melitensis* par amplification de l'ADN. *J. Trop. Med. Hyg.* 95, 271–275.
3. Bishnu B. Bhandari., 2003. Module 4, Evaluation Participative, IGES Institut des Strategies Environnementales Mondiales.
4. Bonfoh B., Makita K., Grace D., 2010. Analyse participative des risques des denrées alimentaires d'origine animale. communication introductive.
5. Bogdanovich T., Skurnik M., Lübeck P.S., et al., 2004. Validé 5 ' nucléase PCR pour l'identification rapide du genre *Brucella*. *J. Clin. Microbiol.* 42, 2261 2263.
6. Bonfoh B., Wasem A., Roth C., et al., 2004. L'hygiène et la qualité sanitaire du lait et des produits laitiers, Implications en santé publique *ITS/INSAH*. Note méthodologique N°08.
7. Bonfoh B., Fané A., Steinman P., et al., 2003. Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus au Mali et leurs implications en santé publique. *Etudes et recherches sahéliennes* N°8-9 19-27.
8. Bonfoh B., Zinsstag J., Farah Z., et al., 2003. Lait Sain pour le Sahel: une étude de cas au Mali. WWW.laitsain.com.
9. Braeunig J., 2008. Infections d'origine alimentaire, intoxications et zoonoses. Second cours de l'analyse participative du risque, ILRI, Novembre 17-28.
10. Bricker B.J., 2002. PCR comme outil de diagnostic de la brucellose. *Vet. Microbiol.* 90(1-4),435-446. Review.

11. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA., Juin 2007. Brucellose caprine et ovine; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
12. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA., Juin 2007. Brucellose bovine; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
13. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA 2007. Brucellose canine; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
14. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA., 2007. Brucellose porcine et sauvage; brucella suis; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
15. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA., 2007. épididymite ovine: brucella ovis; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
16. Centre de sécurité alimentaire et de santé publique, université de l'état IOWA., 2007. Brucellose; OIE, Institut pour la coopération international de Biologies animales.
17. Chevassus-Au-Louis.B., 2000. L'analyse du risque alimentaire: Quels principes, quels modèles, quelles organisations pour demain ?
18. Delia G., 2008. Aliment Sûr, Aliment Equitable, Approches du risque basé sur la sécurité sanitaire de l'aliment dans le secteur informel ; ILRI.
19. Desachy F., 2005. Les zoonoses, transmission des maladies des animaux à l'homme ; identification des pathologies les plus courantes : diagnostic, traitement et soins des maladies. Edition de VECCHI S.A.

20. Dumas J., et les chefs de service de l'institut pasteur., 1958. Bactériologie médicale, Flammarion et C^{ie} mise à jour.
21. Fané A., Bonfoh B., Zinsstag J., et al., 2003. Etude de l'effet de la fermentation du lait sur les Brucelles; RASPA Vol 3N°1.
22. FAO/OMS., 2006. Les bases scientifiques des travaux du codex : L'analyse des risques dans le cadre du Codex. Module 4.1 Document de formation codex. 197 pages.
23. FAO/OMS., 2007. Fourniture d'avis scientifiques sur la sécurité sanitaire des aliments et la nutrition (au Codex et aux pays membres). Rome/Genève.
24. Fekete A., Bantle J.A., Halling S.M., et al., (1990). Développement préliminaire d'un test de diagnostic de la brucellose en utilisant la PCR. J. Appl. Bacteriol. 69 (2), 216-227. J. Appl. Bacteriol. 69(2), 216-227.
25. Fekete A., Bantle J.A., Halling S.M., (1992). Détection de Brucella par PCR chez les bovins dans les tissus foetaux et maternels. J. Vet. Diagn. Invest. 4(1), 79-83.
26. Gallien P., Dorn C., Alban G., et al., 1998. Détection des espèces de Brucella par PCR dans les organes de bovins naturellement infectés. Vet. Rec. 142(19), 512-514.
27. Girndt.A., 2002. Communication du risque dans le domaine de la sécurité alimentaire, BFR.
28. Guarino A., Serpe L., Fusco G., et al., 2000. Détection des espèces de Brucella dans le sang de buffle par le gène-PCR spécifique. Vet. Rec. 147(22), 634-636.
29. Hamdy M.E., Amin A.S., 2002. Détection des espèces de Brucella dans le lait des bovins, ovins, caprins et chameaux infectés par PCR. Vet. J. 163(3), 299-305.
30. Leal-Klevezas D.S., Martínez-Vázquez I.O., López-Merino A., et al., 1995. PCR en une seule étape pour la détection de Brucella spp. à partir du sang et du lait des animaux infectés. J. Clin. Microbiol. 33(12), 3087-3090.

31. Leyla G., Kadri G., Umran O., 2003. Comparaison de PCR et de la culture bactériologique pour le diagnostic de la brucellose ovine en utilisant des échantillons de fœtus avorté. *Vet. Microbiol.* 93(1), 53-61.
32. Makita K., Avril 2009. conception d'étude d'une recherche épidémiologique et méthode d'échantillonnage pour une analyse de risque, assurer une analyse de risque épidémiologiquement fiable; Côte d'Ivoire.
33. Manterola L., Tejero-Garcés A., Ficapal A., et al., 2003. Évaluation d'un test PCR pour le diagnostic de *Brucella ovis* dans des échantillons de sperme de béliers. *Vet. Microbiol.* 92(1-2), 65-72.
34. Merial., Août 2004. Cours de maladies réputées contagieuses. Brucellose animale. Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises. Unité de Pathologies Infectieuses.
35. Ministère de l'Élevage du Sénégal, Novembre 2005. Maitrise de la qualité dans la transformation laitière ; guide de bonnes pratiques d'hygiène.
36. Morata P., Queipo-Ortuno MI., Colmenero J.D., 1998. Stratégie pour l'optimisation de l'amplification d'ADN dans un test PCR du sang périphérique utilisé pour le diagnostic de la brucellose humaine. *J. Clin. Microbiol.* 36, 2443–2446.
37. Navarro E., Escribano J., Fernández J., et al., 2002. Comparaison de trois méthodes différentes de PCR pour la détection de *Brucella* spp dans les échantillons de sang humain. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 34(2), 147-151.
38. Newby D.T., Hadfield T.L., Roberto F.F., 2003. Détection par PCR en temps réel de *Brucella abortus*: une étude comparative de SYBR green I, 5'-exonucléase, et des dosages sonde d'hybridation. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4753–4759.
39. O'Leary S., Sheahan M., Sweeney T., 2006. Détection de *Brucella abortus* par PCR dans le sang, le lait et les tissus lymphatiques des vaches sérologiquement positifs. *Res. Vet. Sci.* 81(2), 170-176.

40. Pillet Ch., Bourdon J.L., Toma B., et al., 1975. Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. Edition DOIN ; p(476).
41. Portanti, O., Tittarelli, M., Di Febo, T., et al., 2006. Développement et validation du kit de l'ELISA compétitive pour le diagnostic sérologique de brucellose ovine, caprine et bovine; journal de Médecine Vétérinaire Séries B, 53 (10) pp. 494-498.
42. Queipo-Ortuño M.I., Morata P., Ocon P., et al., 1997. Diagnostic rapide de la brucellose humaine par du sang périphérique à la PCR. J. Clin. Microbiol. 35,2927–2930.
43. Queipo-Ortuño M.I., Colmenero J.D., Muñoz N., et al., 2006. Diagnostic rapide de Brucella orchio-épididymite par dosage à la PCR en temps réel dans des échantillons d'urine. J. Urol. 176(5), 2290-3.
1. Rapport annuel de la Direction Nationale de la Statistique et de l'Informatique, 2009. Comptes économiques du Mali.
 2. Rapport annuel de la Direction Nationale des Services Vétérinaires, 2004.
 3. Sanaa M., Cerf O., 2002. Epidémiologie et santé animale ; la démarche d'analyse quantitative des risques de maladies infectieuses transmises par les aliments. (41) pp 157-168.
 4. Sreevatsan S., Bookout J.B., Ringpis F., et al., 2000. Une approche complexe pour la détection moléculaire de Brucella abortus et / ou Mycobacterium bovis chez les bovins infectés. J. Clin. Microbiol. 38(7), 2602-2610.
 5. Steinmann P., Bonfoh B., Traoré M., et al., 2006. Séroprévalence de la brucellose et les facteurs de risque pour la séroconversion des personnes fébriles dans les centres de santé urbains au Mali ; RASPA EISMV de Dakar, Vol4 N°3-4.
 6. Tasei.J., Ranque.P., Balique.H., et al., 1992. La brucellose humaine au Mali. Résultats d'une enquête séro-épidémiologique. Acta Tropiques. **39** 253–264 (1992).

7. Tounkara K., Maiga S., Traoré A., et al., 1994. Epidémiologie de la brucellose bovine au Mali : enquête sérologique et isolement des premières souches de *Brucella abortus*. *Revue scientifique technique OIE*, pp 777-786.
8. Vanzini V.R., Aguirre N.P., Valentini B.S., et al., 2001. Comparaison de l'ELISA indirect avec le test à l'anneau pour la détection des anticorps de *Brucella abortus* dans les échantillons de lait en vrac; *microbiologie vétérinaire*, vol. 82, N°1, pp. 55-60.
9. Zerva L., Bourantas K., Mitka S., et al., 2001. Le sérum est l'échantillon clinique préféré pour le diagnostic de la brucellose humaine par PCR. *J. Clin. Microbiol.* 39(4), 1661-1664.