



HAL
open science

Estimation de la séroprévalence de l'infection à *Brucella Canis* dans les élevages canins et description de facteurs d'exposition à l'agent pathogène

Léa Trouvé

► To cite this version:

Léa Trouvé. Estimation de la séroprévalence de l'infection à *Brucella Canis* dans les élevages canins et description de facteurs d'exposition à l'agent pathogène. Médecine vétérinaire et santé animale. 2024. dumas-04808710

HAL Id: dumas-04808710

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04808710v1>

Submitted on 28 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Année 2024

**ESTIMATION DE LA SÉROPRÉVALENCE DE L'INFECTION
À *BRUCELLA CANIS* DANS LES ÉLEVAGES CANINS ET
DESCRIPTION DE FACTEURS D'EXPOSITION À L'AGENT
PATHOGÈNE**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 29 août 2024

par

Léa Mathilde TROUVÉ

sous la direction de

Alain FONTBONNE

JURY

Président du jury :	M. Dominique GRANDJEAN	Professeur à l'EnvA
Directeur de thèse :	M. Alain FONTBONNE	Professeur à l'EnvA
Examineur :	M. Guillaume CROZET	Maître de Conférences à l'EnvA

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire

version mai 2024



Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
Mme	Benckekroun	Ghita	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
Mme	Chastant	Sylvie	Professeur	DPASP
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences HDR	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guéneq	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Rivière	Julie	Professeur	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Béguin	Jérémy	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Crozet	Guillaume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammeri	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émilie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Radière	Guéric	Maître de conférences associé	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse, M. Dominique GRANDJEAN, Professeur à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider mon jury de thèse,
Hommages respectueux.

À M. Alain FONTBONNE, Professeur à l'EnvA,
Pour m'avoir proposé ce sujet,
Pour votre encadrement tout au long de l'élaboration de ce travail,
Sincères remerciements.

À M. Guillaume CROZET, Maître de conférences à l'EnvA,
Pour avoir accepté de participer à ce jury,
Sincères remerciements.

À Mme Karine ABATE,
Pour ton aide précieuse et ton implication dans la réalisation de ce travail,
Sincères remerciements.

À M. Patrick MVUMBI,
Pour tes conseils et corrections rapides,
Sincères remerciements.

À Mme Acacia FERREIRA VICENTE et à Mme Gina ZANELLA,
Pour votre aide dans ce travail et vos réponses à mes nombreuses questions,
Sincères remerciements.

À Maëline RIBEIRO et au reste de l'équipe du LNR brucellose de l'Anses,
Pour votre implication dans cette étude et pour m'avoir permis de découvrir votre travail au laboratoire,
Sincères remerciements.

Table des matières

Liste des figures	3
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations	7
Introduction	9
Première partie : Étude bibliographique	11
1. Description et importance	11
2. Physiopathologie	11
3. Situation épidémiologique	11
A. Situation dans le monde	11
B. Situation en Europe	12
C. Situation en France	13
4. Voies de transmission	14
5. Tableau clinique et lésions	14
A. Signes cliniques.....	14
B. Signes cliniques spécifiques chez le mâle	15
C. Signes cliniques spécifiques chez la femelle.....	16
6. Traitements.....	17
7. Méthodes de diagnostic.....	18
A. Diagnostic indirect : tests sérologiques	18
B. Diagnostic direct : culture bactériologique, PCR, spectrométrie de masse	20
a. Cultures bactériologiques	20
b. Méthodes de détection moléculaire	20
8. La maladie chez l'homme	22
A. Voies de transmission	22
B. Signes cliniques.....	22
C. Populations à risque	22
D. Cas récents en Europe.....	22
9. Prévention de la maladie	23
10. Contrôle de la maladie	23
11. Règlementation actuelle	24
Deuxième partie : Étude expérimentale	25
1. Matériels et méthodes	25
A. Matériels.....	25
a. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat	25
b. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA	25
B. Méthodes.....	26
a. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat	26
b. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA	28
c. Méthodes communes aux études n°1 et n°2.....	30
2. Résultats.....	32
A. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat	32
a. Analyse des données recueillies	32
b. Analyse des réponses au questionnaire.....	35
c. Résultats des tests de diagnostic direct et indirect.....	44
B. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA	45
a. Analyse des données recueillies	45
b. Résultats des tests de diagnostic indirect	48

3. Discussion	49
A. <i>Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat</i>	49
a. Taux de séropositivité à la brucellose canine dans nos échantillons	49
b. Facteurs d'exposition à la brucellose canine dans les élevages canins.....	49
c. Réponses aux questionnaires des cinq élevages possédant des chiens séropositifs	51
d. Limites de l'étude.....	53
B. <i>Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA</i>	54
a. Taux de séropositivité à la brucellose canine dans nos échantillons	54
b. Comparaison avec les données épidémiologiques actuelles	55
c. Limites	56
C. <i>Points de discussion communs aux deux études</i>	57
a. Sensibilité et spécificité des tests sérologiques utilisés.....	57
b. Risque de résultats faussement positifs	58
c. Risque de résultats faussement négatifs.....	58
D. <i>Perspectives et suite à donner</i>	58
Conclusion	61
Liste des références bibliographiques	63
Annexe 1 : Questionnaire soumis aux éleveurs (dernière version)	65
Annexe 2 : Brochure d'un des tests sérologiques utilisé par l'Anses (technique du LFIA)	73

Liste des figures

Figure 1 : Distribution mondiale de la fréquence de chiens infectés par <i>B. canis</i> , par pays (Santos <i>et al.</i> , 2021).....	12
Figure 2 : Discospondylite chez un chien atteint de brucellose canine (Jérémy Mortier, EnvA)	15
Figure 3 : Atrophie testiculaire droite d'un chien infecté à <i>B. canis</i> (L. Evans).....	15
Figure 4 : Utérus après-avortement d'une chienne infectée à <i>B. canis</i> (L. Carmichael)	16
Figure 5 : Fœtus avorté d'une chienne infectée à <i>B. canis</i> (UMES, EnvA).....	16
Figure 6 : Code utilisé pour l'anonymisation des échantillons	29
Figure 7 : Technique de la MAT utilisée par le LNR brucellose.....	31
Figure 8 : Test de diagnostic rapide (LFIA) utilisé par le LNR brucellose.....	32
Figure 9 : Départements d'origine des élevages inclus dans l'étude.....	33
Figure 10 : Effectifs des élevages de l'étude	34
Figure 11 : Provenance de l'eau utilisée pour abreuver les chiens au sein des élevages.....	43
Figure 12 : Répartition du nombre de chiennes en fonction de la race	46
Figure 13 : Départements de provenance des chiennes françaises ayant été incluses dans l'étude	47
Figure 14 : Répartition en Île de France des chiennes ayant été incluses dans l'étude.....	47
Figure 15 : Résultats des tests de diagnostic indirect effectués sur des échantillons provenant de plusieurs pays européens (étude de Buhmann <i>et al.</i> (2019)).....	56

Liste des tableaux

Tableau 1 : Intervalle de valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests sérologiques disponibles pour la recherche de l'infection à <i>B. canis</i> (d'après Djokic et <i>al.</i> (2023))	19
Tableau 2 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques utilisés par le LNR brucellose (d'après Ferreira Vicente (2024))	19
Tableau 3 : Récapitulatif des tests de dépistage à réaliser selon la présence ou non de signes cliniques évocateurs de la brucellose canine (Anses, 2022).....	21
Tableau 4 : Nombre de chiens prélevés par élevage	35
Tableau 5 : Introduction de chiens au cours des 12 derniers mois dans les élevages de l'étude	36
Tableau 6 : Ventes/cessions de chiens au cours des 12 derniers mois dans les élevages de l'étude	36
Tableau 7 : Participation des animaux de l'élevage à des regroupements canins	37
Tableau 8 : Modalités de saillies pratiquées dans les élevages de l'étude.....	38
Tableau 9 : Troubles de la reproduction dans les élevages de l'étude.....	39
Tableau 10 : Récapitulatif des principales mesures de biosécurité mises en place à l'introduction d'un nouvel animal ou lors de visites de personnes et de chiens extérieurs à l'élevage.....	40
Tableau 11 : Sectorisation au sein des élevages de l'étude.....	41
Tableau 12 : Protocoles de nettoyage et de désinfection au sein des élevages	41
Tableau 13 : Gestion des fœtus avortés au sein des élevages.....	42
Tableau 14 : Résultats des tests de diagnostic direct et indirect dans les élevages de l'étude	44
Tableau 15 : Résultats aux deux tests sérologiques des animaux séropositifs.....	45
Tableau 16 : Résultats des analyses sérologiques des quatre chiennes séropositives	48
Tableau 17 : Informations sur les chiennes séropositives à <i>B. canis</i>	48
Tableau 18 : Effectifs et mise à la reproduction dans les cinq élevages présentant des chiens séropositifs.....	52
Tableau 19 : Types de troubles de la reproduction rencontrés au sein des cinq élevages présentant des chiens séropositifs.....	53

Liste des abréviations

AGID : Agar Gel Immunodiffusion Test

CFT : Complement Fixation Test

CERCA : Centre d'Étude en Reproduction des Carnivores

DDPP : Direction Départementale de la Protection des Populations

EnvA : École Nationale Vétérinaire d'Alfort

EnvT : École Nationale Vétérinaire de Toulouse

FFP2 : Filtering Face Piece 2

iELISA : indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

IFA : Indirect Fluorescent Antibody

ITS : Internal Transcribed Spacer

LFIA : Lateral Flow Immunoassay

LNR : Laboratoire National de Référence

MAT : Méthode d'agglutination en plaque

OMSA : Organisation Mondiale de la Santé Animale

PCR : Polymerase Chain Reaction

RSAT : Rapid Slide Agglutination Test

SAT : Serum Agglutination Test

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

TAT : Tube Agglutination Test

2ME : 2-mercaptoethanol

Introduction

La brucellose canine est une maladie infectieuse causée par *Brucella canis*, un coccobacille gram négatif, dont l'espèce canine est le réservoir naturel. Cette maladie contagieuse est à l'origine de troubles de la reproduction et de l'appareil reproducteur tels que des avortements, une infertilité ou des portées de taille réduite mais aussi de signes cliniques non spécifiques tels que de la fatigue, une fièvre ondulante, des troubles ostéoarticulaires, etc. Une fois l'animal infecté, des traitements existent mais la maladie peut persister de façon chronique et résister aux antibiotiques. La brucellose canine est également une zoonose, qui peut parfois être grave, notamment pour les personnes ayant une immunité diminuée. L'impact de la brucellose canine est donc à la fois sanitaire et économique, et pose un réel problème au sein des élevages canins une fois la maladie introduite (Kauffman et Petersen, 2019).

Cette maladie de répartition mondiale est enzootique dans certaines régions du globe telles que l'Amérique Centrale et du Sud, l'Asie et l'Afrique mais était encore assez rare dans les pays d'Europe de l'Ouest. Cependant, depuis quelques années, la maladie semble s'étendre dans ces pays, en particulier depuis l'épidémie de covid-19 et l'augmentation des importations de chiens provenant d'Europe de l'Est. De nombreux foyers ont ainsi été détectés dans de nombreux pays d'Europe de l'Ouest, associés à la présence de plusieurs cas humains, sans qu'il existe de données sur la prévalence et la séroprévalence de cette maladie en Europe de l'Ouest et notamment en France (Djokic *et al.*, 2023).

Notre thèse a donc pour objectifs d'essayer d'estimer la séroprévalence de l'infection à *B. canis* dans les élevages canins français ainsi que de décrire les facteurs d'exposition à l'agent pathogène dans ces élevages.

Nous présenterons d'abord, dans une première partie, une étude bibliographique résumant les caractéristiques de la maladie ainsi que la situation épidémiologique actuelle. Dans une deuxième partie, nous présenterons deux études expérimentales. Dans une première étude, nous avons d'abord recherché l'infection à *B. canis* parmi les chiens d'élevages canins français volontaires pour participer à celle-ci, entre octobre 2022 et décembre 2023. Les facteurs d'exposition à cet agent pathogène ont été étudiés par l'intermédiaire d'un questionnaire que nous avons fait remplir aux éleveurs. Dans une deuxième étude, nous avons recherché la présence de la brucellose canine au sein de 390 échantillons de sérum de chiennes suivies au service de reproduction de l'EnvA, entre mai 2022 et août 2023.

Première partie : Étude bibliographique

1. Description et importance

La brucellose canine est une maladie infectieuse causée par *Brucella canis*, un cocobacille gram négatif aérobie intracellulaire facultatif. Cette bactérie fait partie du genre *Brucella* qui comprend 12 espèces ayant pour particularité d'infecter le plus souvent des mammifères (Girault *et al.*, 2022). *B. canis* est spécifique de l'espèce canine qui en est le réservoir naturel, mais le chien peut aussi être infecté par d'autres espèces de brucelles s'il est en contact avec des ruminants (*B. abortus* et *B. melitensis*) ou avec des suidés (*B. suis*) (De Massis *et al.*, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023). *B. canis*, tout comme *B. ovis*, possède un phénotype dit rugueux, c'est-à-dire qu'il présente un lipopolysaccharide de surface qui ne possède pas l'antigène O, contrairement aux autres espèces de brucelles dites lisses (Ponsart *et al.*, 2020). Ce phénotype rugueux serait à l'origine d'une virulence plus faible que pour les espèces lisses (Mancilla, 2016). Cependant, cette maladie est très contagieuse entre chiens et est également une zoonose. Depuis quelques années, la maladie semble s'étendre en Europe de l'Ouest au sein des élevages, mais aussi chez des chiens de particuliers, certainement depuis l'épidémie de covid-19 et l'augmentation des importations de chiens provenant d'Europe de l'Est. Il est donc important de savoir suspecter et diagnostiquer cette maladie, mais aussi de savoir la gérer en cas d'atteinte confirmée (Fontbonne et Ponsart, 2023).

2. Physiopathologie

Les bactéries pénètrent les tissus à travers les muqueuses génitales ou oro-nasales. Elles migrent ensuite jusqu'aux nœuds lymphatiques loco-régionaux, soit sous forme libre soit au sein des cellules phagocytaires, entraînant une adénomégalie et une inflammation. Les bactéries qui ne sont pas éliminées par les cellules phagocytaires vont se répliquer puis se propager par le sang et la lymphe vers différents organes, avec un tropisme particulier pour les organes reproducteurs et lymphoïdes. Il y a alors prolifération des bactéries, notamment dans les testicules, le tissu mammaire, l'utérus ainsi que dans les nœuds lymphatiques loco-régionaux et la rate, à l'origine des troubles de la reproduction et autres manifestations cliniques observées lors de brucellose canine (Kauffman et Petersen, 2019).

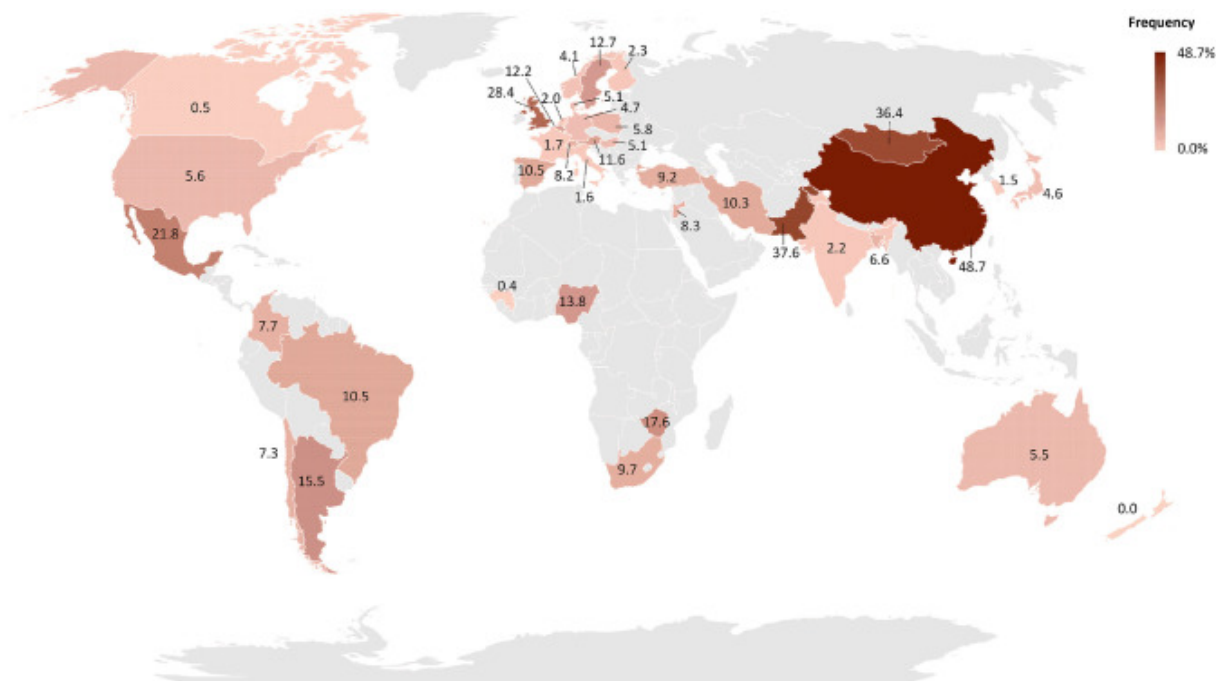
3. Situation épidémiologique

A. Situation dans le monde

La brucellose canine a été caractérisée pour la première fois en 1966 aux États-Unis grâce à une étude sur l'avortement chez les beagles, après plusieurs épidémies d'infertilité et d'avortements dans plusieurs états (Carmichael, 1999).

La maladie est de répartition mondiale (Figure 1) et existe à l'état enzootique en Amérique Centrale et du Sud, dans le Sud des États-Unis, en Asie et en Afrique, où elle est particulièrement fréquente parmi les chiens errants, dans les refuges et les élevages (Djokic *et al.*, 2023 ; Hensel *et al.*, 2018).

Figure 1 : Distribution mondiale de la fréquence de chiens infectés par *B. canis*, par pays (Santos *et al.*, 2021)



Les régions en gris indiquent les pays pour lesquels aucune enquête épidémiologique n'a été menée.

Les différentes études publiées depuis une vingtaine d'années décrivent une séroprévalence modérée à élevée dans ces zones enzootiques, allant d'environ 6 % à 35 % (Hensel *et al.*, 2018).

B. Situation en Europe

Depuis 2017, de nombreux cas sporadiques ou foyers ont été détectés dans certains pays d'Europe de l'Ouest tels qu'aux Pays-Bas, en Ukraine, en Pologne, au Royaume-Uni, en Suède, en France, en Italie ou encore en Espagne. Dans cette étude, les auteurs ont recueilli des échantillons provenant de chiens testés pour la brucellose canine originaires de 20 pays européens et ont montré que 3,7 % des échantillons étaient positifs au test de diagnostic direct (PCR (*Polymerase Chain Reaction*) en temps réel) et que 5,4 % des échantillons étaient positifs au test de diagnostic indirect (test d'agglutination) (Buhmann *et al.*, 2019).

En Italie, l'infection à *B. canis* a été confirmée pour la première fois en 2020 dans un grand élevage commercial. Une première série de tests sérologiques a été effectuée sur 598 animaux et a révélé la présence de 269 animaux séropositifs (45,0 %). Une deuxième série de tests a été réalisée 4-5 semaines plus tard et a montré que 241 chiens sur les 683 testés étaient séropositifs (35,3 %), avec un isolement de la bactérie chez 68 chiens (10,0 %) (De Massis *et al.*, 2021).

Concernant les Pays-Bas, *B. canis* a été isolée pour la première fois en novembre 2016 chez un chien importé de Roumanie. Suite à cette découverte, une enquête a été menée de novembre 2016 à décembre 2018 et a révélé la présence de 18 chiens

séropositifs à *B. canis*, tous provenant de sauvetages et importés de pays de l'Europe de l'Est (van Dijk *et al.*, 2021).

Au Royaume-Uni, il n'y avait jusqu'à récemment que quelques cas sporadiques de chiens infectés à *B. canis*, liés au commerce des animaux de compagnie provenant d'Europe de l'Est. En effet, deux chiens avaient été déclarés infectés en 2017, suite à l'obtention de cultures sanguines positives. L'un des chiens était importé de Roumanie (Morgan *et al.*, 2017) et l'autre de Bosnie (Whatmore *et al.*, 2017) et les deux chiens présentaient des signes cliniques de discospondylite. Depuis juillet 2020, un nombre croissant de cas suspects de brucellose canine ont été rapportés par des vétérinaires et laboratoires vétérinaires suite à des suspicions cliniques et/ou à des tests de laboratoire positifs (sérologie, bactériologie ou PCR) (Human Animal Infection and Risk Surveillance Group, 2021). Depuis, de nombreux cas continuent d'être régulièrement déclarés au Royaume-Uni (Djokic *et al.*, 2023).

En Suède, le premier cas d'infection à la brucellose canine a été détecté chez une chienne présentant des troubles de la reproduction. Celle-ci avait été accouplée auparavant avec deux chiens : un provenant de Pologne et l'autre de Serbie (Holst *et al.*, 2012). Un deuxième foyer a ensuite été détecté en 2013, chez des chiennes accouplées à un chien importé d'Espagne pour la reproduction (Kaden *et al.*, 2014). Enfin, un troisième foyer a été confirmé en 2020 suite à l'importation d'un chien des Pays-Bas, séropositif à *B. canis* (Djokic *et al.*, 2023).

Cette augmentation du nombre de cas d'infection à *B. canis* peut donc être reliée à l'augmentation des mouvements de chiens entre les pays (en particulier à l'importation massive de chiens provenant d'Europe de l'Est) et à l'essor du commerce d'animaux en ligne, sans dépistage avant et après l'importation (Djokic *et al.*, 2023). Les chiens les plus à risque sont les chiens importés de zones où la brucellose canine est enzootique et les chiens utilisés pour la reproduction (Kauffman et Petersen, 2019).

C. Situation en France

Le premier cas de brucellose canine en France a été isolé en 1996 dans un élevage canin par A. Fontbonne et B. Garin-Bastuji (Fontbonne et Garin-Bastuji, 1996). Dans la foulée de cet isolement, une étude de prévalence a été réalisée en 1999-2000 par le CERREC (Centre d'étude et de recherche en reproduction et élevage des carnivores) de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon, commandée par la Direction générale de l'alimentation. Deux cent quatre-vingt-quinze élevages ayant des problèmes de reproduction avaient été testés, révélant 16 élevages suspects présentant des chiens séropositifs. Des examens complémentaires, PCR et culture bactérienne, ont permis de confirmer la contamination de trois élevages (les autres élevages n'ayant pas souhaité poursuivre les examens complémentaires). Cette étude a permis de montrer que la brucellose canine était bien présente en France (Fontbonne, 2020a).

Depuis, des cas de brucellose canine ont été détectés en France, avec une hausse du nombre de cas suspectés et confirmés. En effet, environ 900 chiens appartenant à plus de 250 propriétaires français ont été considérés à haut risque d'exposition à *B. canis* au cours des deux dernières années. Les chiens considérés à haut risque d'exposition sont les chiens présentant des signes cliniques évocateurs de brucellose canine ou ceux ayant été en contact avec un chien infecté ou suspect d'être infecté de brucellose. Parmi ceux-ci, 170 chiens ont eu un résultat sérologique positif à *B. canis* et 31 d'entre eux ont été confirmés infectés à la brucellose canine par isolement de souche (Djokic *et al.*, 2023).

Toutefois, la situation épidémiologique exacte de la maladie en France est encore inconnue puisque le dépistage des chiens ne se fait actuellement que lors de manifestations cliniques de la maladie, et n'est pas systématisé lors d'imports, d'exports ou de mises à la reproduction des chiens. De plus, la brucellose canine est encore peu connue d'un grand nombre de vétérinaires qui ne pensent pas toujours à la rechercher lors de problèmes de reproduction (Djokic *et al.*, 2023).

4. Voies de transmission

B. canis se transmet majoritairement par voie vénérienne pendant l'accouplement, mais aussi par voie oro-nasale et conjonctivale (Fontbonne et Ponsart, 2023). La bactérie pénètre dans l'hôte par ingestion, par voie respiratoire ou par passage de la barrière cutanée, à travers les muqueuses ou des lésions cutanées.

Les produits contaminants principaux sont le sperme, les sécrétions utérines ou les produits de la mise bas (annexes fœtales, avortons...) dont la charge bactérienne est souvent très élevée. D'autres fluides organiques tels que l'urine, les sécrétions nasales et oculaires ainsi que la salive peuvent contenir des bactéries et être une voie de transmission possible, même si les charges bactériennes sont beaucoup plus faibles dans ces fluides. Néanmoins, la probabilité d'exposition des animaux à de l'urine notamment est très forte, en particulier dans les élevages, ce qui en fait une voie de transmission potentiellement importante (Djokic *et al.*, 2023). L'urine des chiens mâles serait plus à risque, d'autant plus qu'elle resterait contaminante même après stérilisation chirurgicale (Fontbonne et Ponsart, 2023).

Les chiots peuvent être infectés par transmission verticale intra-utérine ou via l'ingestion de lait provenant de chiennes infectées par la brucellose canine (Hollett, 2006).

Enfin, une transmission indirecte est aussi possible via des objets de l'environnement, des seringues contaminées, du matériel d'insémination artificielle ou encore lors de transfusion sanguine avec du sang contaminé (Hollett, 2006).

Les brucelles sont relativement résistantes dans l'environnement. Les conditions optimales pour leur survie sont un environnement humide et des basses températures ($\leq 4^{\circ}\text{C}$). Elles peuvent persister plus de deux mois dans une eau à 20°C et de deux à quatre mois dans le sol, dans les déchets organiques et/ou sur l'herbe fraîche à condition que celle-ci reste humide (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023).

5. Tableau clinique et lésions

A. Signes cliniques

L'infection à *B. canis* est majoritairement associée à des anomalies de la reproduction et de l'appareil reproducteur mais les signes cliniques peuvent aussi être non spécifiques comme de la fatigue, une perte de poids, une intolérance à l'effort, de la léthargie, une mauvaise qualité du pelage ou encore une lymphadénopathie en début de maladie. Plus tardivement, une splénomégalie peut apparaître. Des atteintes oculaires sont aussi rapportées dans les cas d'infection chronique comme une uvéite antérieure, un œdème de la cornée et une endophtalmie (Cosford, 2018 ; Djokic *et al.*, 2023 ; Kauffman et Petersen, 2019). La brucellose peut aussi causer des ostéomyélites, des discospondylites (Figure 2) ou des polyarthrites à l'origine de problèmes orthopédiques tels que des boiteries, faiblesses

musculaires, douleurs à la colonne vertébrale et troubles neurologiques (Kauffman et Petersen, 2019). La plupart des chiots nés vivants d'une mère infectée à *B. canis* décèdent dans les heures ou jours suivant la naissance. Certains chiots survivent mais restent infectés et potentiellement contaminants et ont comme unique signe clinique une lymphadénomégalie généralisée jusqu'à leur maturité sexuelle, période à laquelle d'autres signes cliniques pourront survenir (Djokic *et al.*, 2023).

Figure 2 : Discospondylite chez un chien atteint de brucellose canine (Jérémy Mortier, EnvA)

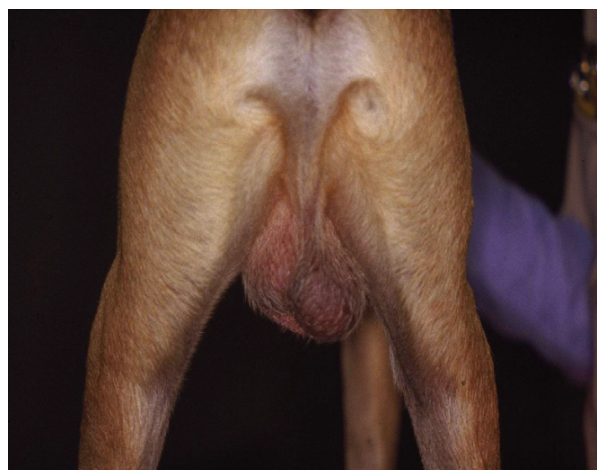


Une discospondylite (désignée par la flèche) peut être un signe d'infection à *B. canis*.

B. Signes cliniques spécifiques chez le mâle

Chez le mâle, les signes cliniques sont majoritairement épididymaires. On observe le plus souvent des épididymites aiguës et des prostatites. Plus rarement, on peut rencontrer une orchite associée à une dermatite scrotale, secondaire au léchage et pouvant entraîner une atrophie testiculaire définitive (Figure 3). Ces atteintes testiculaires peuvent être unilatérales ou bilatérales et entraîner des modifications du spermogramme avec des agglutinations ou des anomalies des spermatozoïdes ou encore la présence de cellules inflammatoires dans le sperme (Djokic *et al.*, 2023 ; Kauffman et Petersen, 2019). Ces altérations des spermatozoïdes se produiraient majoritairement au niveau de la queue de l'épididyme et seraient probablement dues à une exposition prolongée aux toxines bactériennes ou à la réponse immunitaire locale (Angrimani *et al.*, 2016). Une infertilité est donc souvent décrite et on peut suspecter *B. canis* lors d'une série d'accouplements infructueux avec différentes femelles qui n'ont pas de problème d'infertilité connu (Kauffman et Petersen, 2019).

Figure 3 : Atrophie testiculaire droite d'un chien infecté à *B. canis* (L. Evans)



C. Signes cliniques spécifiques chez la femelle

B. canis cause également divers troubles de la reproduction chez la femelle : avortements, infertilité, portées de taille réduite lors de résorption embryonnaire. Les femelles infectées présentent souvent un historique d'avortements et d'infertilité répétés, entrecoupés de périodes avec des portées nées à terme (Kauffman et Petersen, 2019). Le signe clinique le plus fréquent est un avortement tardif survenant entre le 45^{ème} et le 59^{ème} jour de gestation (Hollett, 2006). Cependant, l'arrêt de gestation peut survenir plus tôt et passer inaperçu, laissant penser que la chienne est infertile. Lors d'avortements, les chiennes infectées ont des pertes vaginales caractéristiques foncées, visqueuses et malodorantes, qui peuvent persister entre une et six semaines après l'avortement (Figure 4). Les autopsies d'utérus de femelles après avortement révèlent souvent une endométrite et une placentite. Les fœtus avortés sont partiellement autolysés (Figure 5) et présentent un œdème sous-cutané, des hémorragies et une congestion (Anses, 2022 ; Kauffman et Petersen, 2019).

Figure 4 : Utérus après-avortement d'une chienne infectée à *B. canis* (L. Carmichael)



Des sécrétions foncées, visqueuses et malodorantes sont présentes au sein de la lumière utérine et de l'endomètre.

Figure 5 : Fœtus avorté d'une chienne infectée à *B. canis* (UMES, EnvA)



Les fœtus avortés sont souvent fortement autolysés comme le montre la photographie ci-dessus.

6. Traitements

Pour traiter l'infection à *B. canis*, le traitement usuel est la mise en place d'un traitement antibiotique. Celui-ci serait efficace pour éliminer l'infection et réduire la virulence (Djokic *et al.*, 2023).

Des études *in vitro* suggèrent que les antibiotiques de la famille des tétracyclines, fluoroquinolones et aminoglycosides ont une activité bactéricide contre *B. canis* et que les thérapies qui combinent ces différentes familles sont plus efficaces que l'utilisation d'une seule famille d'antibiotiques (Djokic *et al.*, 2023 ; Hollett, 2006).

Concernant les études *in vivo*, on retrouve dans plusieurs études des protocoles thérapeutiques fondés sur une poly-antibiothérapie avec l'utilisation de tétracycline administrée par voie orale une fois par jour pendant un ou deux mois, et d'aminoglycoside (dihydrostreptomycine, streptomycine ou gentamicine) administrée par voie parentérale pendant sept jours durant les une à deux premières semaines de thérapie puis toutes les trois à quatre semaines. Ces protocoles ont été associés à des pourcentages élevés de guérison avec des résultats négatifs aux tests sérologiques et bactériologiques (De Massis *et al.*, 2022 ; Djokic *et al.*, 2023 ; Hollett, 2006 ; Santos *et al.*, 2021).

En raison de la toxicité potentielle des aminoglycosides, un autre protocole fondé sur une monothérapie avec de l'enrofloxacin a été proposé dans une étude de Wanke *et al.* sur 12 chiens infectés par *B. canis*. Les chiens ont été traités avec 5 mg/kg d'enrofloxacin par voie orale, toutes les 12 heures pendant 30 jours. Les femelles avaient reçu des doses supplémentaires d'enrofloxacin pendant les phases œstrales et lutéales des cycles suivants. Un suivi a été réalisé pendant 38 mois et a montré une régression des signes cliniques, une réduction des titres d'anticorps à la sérologie, et l'absence de détection de la bactérie chez les chiens traités et leur descendance. Selon cette étude, l'enrofloxacin en monothérapie pourrait être un traitement alternatif de la brucellose canine (Wanke *et al.*, 2006).

Une étude rétrospective menée entre 2017 et 2022 sur 30 chiens infectés par la brucellose canine a également montré qu'une poly-antibiothérapie était le traitement le plus efficace, mais que des récurrences et infections persistantes se produisaient fréquemment. En effet, trois des 30 chiens de l'étude ont été maintenus sous traitement antibiotique à vie (Djokic *et al.*, 2023 ; Guarino *et al.*, 2023).

Cependant, le traitement des chiens infectés est un sujet débattu car l'antibiothérapie ne garantit pas l'élimination de la bactérie et de nombreuses rechutes sont observées malgré le traitement, ce qui augmente le risque de résistance aux antibiotiques. En effet, les brucelles peuvent infecter et persister dans de nombreuses cellules hôtes, en particulier dans les cellules immunitaires et les cellules du système reproducteur. Le traitement antibiotique doit donc être associé à la stérilisation chirurgicale de l'animal et est actuellement la seule alternative à l'euthanasie, qui reste une option non envisageable pour la plupart des propriétaires de chiens (Djokic *et al.*, 2023 ; Fontbonne et Ponsart, 2023). En raison de ce fort risque de rechutes, il conviendrait de tester régulièrement et à vie l'animal après la fin de l'antibiothérapie (Fontbonne et Ponsart, 2023).

7. Méthodes de diagnostic

En raison de la variété des signes cliniques possibles et du fait que parfois seule une infertilité est présente chez les animaux atteints par *B. canis*, des examens de laboratoire sont nécessaires pour confirmer une suspicion d'infection (Kauffman et Petersen, 2019). Selon le degré de suspicion, on utilisera une méthode de diagnostic indirect et/ou de diagnostic direct (Tableau 3).

A. Diagnostic indirect : tests sérologiques

Les tests sérologiques permettent de détecter les anticorps dirigés contre les espèces rugueuses de brucelles (*B. canis* et *B. ovis*) à partir de sérum, prélevé sur tube sec. En effet, les tests sérologiques utilisés pour détecter les espèces lisses sont différents et ne détectent pas *B. canis* (Kauffman et Petersen, 2019).

On utilise souvent cette méthode de détection en première intention, pour le dépistage à l'échelle d'un élevage notamment puisqu'elle est relativement peu coûteuse et permet de tester tous les animaux rapidement. De plus, elle est facile à réaliser et il existe des tests de diagnostic rapide utilisables par les vétérinaires (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023). Après la contamination, la séroconversion peut prendre quatre à six semaines, et jusqu'à 12 semaines. Pour cette raison, un résultat négatif ne signifie pas que l'animal n'est pas infecté et il est conseillé de répéter le test sérologique plusieurs fois (deux à trois fois), toutes les quatre à six semaines (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023). Il n'y a pas encore de consensus de la communauté internationale sur cette méthode de détection, que ce soit sur la souche spécifique de *B. canis* à partir de laquelle dériver l'antigène diagnostique ou sur les stratégies de dépistage à mettre en place en fonction du stade d'infection. La sensibilité et la spécificité du dépistage sérologique varient donc selon les tests utilisés et cette méthode de diagnostic reste non idéale (Djokic *et al.*, 2023).

Un autre inconvénient de cette méthode est la présence de nombreux faux positifs, lors de l'utilisation du RSAT notamment, à cause de réactions croisées avec des antigènes de surface partagés entre *B. canis* et d'autres bactéries telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus equuli*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, des organismes de type *Moraxella* et d'autres bactéries Gram négatives (Cosford, 2018 ; Hollett, 2006).

Il existe de nombreux tests sérologiques pour détecter *B. canis* tels que le RSAT (*Rapid Slide Agglutination Test*), le TAT (*Tube Agglutination Test*)/SAT (*Serum Agglutination Test*) ou encore l'utilisation de plaques de microtitration : iELISA (*indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), mSAT, CFT (*Complement Fixation Test*), AGID (*Agar Gel Immunodiffusion Test*), LFIA (*Lateral Flow Immunoassay*) et IFA (*Indirect Fluorescent Antibody*) (Djokic *et al.*, 2023 ; Hollett, 2006).

Les intervalles de spécificités et de sensibilités des différents tests sérologiques décrits dans la littérature ont été regroupés dans le tableau ci-dessous (Tableau 1), à partir de l'étude de Djokic *et al.* (2023) qui a répertorié l'ensemble des tests sérologiques disponibles ainsi que leurs propriétés. Dans leur étude, les tests ont été décrits en fonction des antigènes utilisés, du type d'anticorps détectés (IgG et/ou IgM). Les valeurs de sensibilités et de spécificités ont été mentionnées. Dans le cas où elles n'étaient pas déclarées, les auteurs les ont calculées lorsque cela était possible. Cependant, il n'est pas possible d'effectuer des comparaisons directes entre les tests. En effet, la provenance des échantillons utilisés pour chaque étude peut varier et il peut y avoir des biais entraînant des erreurs sur l'estimation de la sensibilité et de la spécificité (Djokic *et al.*, 2023).

Tableau 1 : Intervalle de valeurs de sensibilité et de spécificité des différents tests sérologiques disponibles pour la recherche de l'infection à *B. canis* (d'après Djokic et al. (2023))

Test sérologique	Sensibilité	Spécificité
RSAT	70,6 % à 100 %	83,3 % à 100 %
RSAT + 2ME*	31,8 % à 95 %	100 %
TAT	100 %	100 %
TAT + 2ME*	60 % à 95 %	Pas de données
AGID	25,5 % à 96 %	94 % à 100 %
ELISA	88 % à 100 %	94,3 % à 100 %
LFIA	77 % à 100 %	93,5 % à 100 %

*2ME = 2-mercaptoethanol

En France, lors de suspicion d'infection à *B. canis*, les prélèvements sont envoyés au laboratoire national de référence (LNR) pour la brucellose de l'Anses qui est situé à Maisons-Alfort. Ce laboratoire va effectuer les différents tests indirects et directs nécessaires au diagnostic. Les tests sérologiques utilisés par le LNR ainsi que leurs sensibilités et spécificités sont résumés dans le tableau ci-dessous (Tableau 2), (Ferreira Vicente, 2024).

Tableau 2 : Valeurs de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques utilisés par le LNR brucellose (d'après Ferreira Vicente (2024))

Test sérologique	Sensibilité	Spécificité
RSAT	81 %	84 %
RSAT + 2ME*	51 %	100 %
ELISA	100 %	95 %
LFIA	100 %	99 %
MAT (dilution au 1/20)	100 %	97 %
MAT (dilution au 1/40)	100 %	98 %

*2ME = 2-mercaptoethanol

B. Diagnostic direct : culture bactériologique, PCR, spectrométrie de masse

Dans les cas de test sérologique positif ou d'une suspicion clinique forte, il est nécessaire de confirmer l'infection à *B. canis*. En effet, le diagnostic de certitude de la brucellose canine repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie à partir de matériel biologique provenant de l'animal infecté. Cette méthode est peu sensible et il n'est pas toujours possible d'isoler la bactérie chez un animal infecté. La culture bactériologique est actuellement la méthode de référence. Cependant, la méthode PCR et la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) sont de plus en plus utilisées.

a. Cultures bactériologiques

Le matériel de choix pour la culture bactériologique est le matériel de parturition ou d'avortement frais en raison du nombre très important de bactéries présentes dans ces tissus, qui peut dépasser 10^{10} /ml (Keid *et al.*, 2007b). Il est également possible d'utiliser des écouvillons vaginaux chez les femelles ayant récemment mis bas ou avorté. Bien que la quantité de bactéries diminue au cours du temps, des résultats positifs peuvent être retrouvés plus de cinq semaines après la mise-bas. Chez les mâles, une culture de semence peut être réalisée et la sensibilité sera d'autant meilleure que des signes cliniques au niveau de l'appareil reproducteur seront observés chez l'animal. Il est aussi possible de rechercher *B. canis* à partir de lait, d'urine ou d'un prélèvement sur une vertèbre ou l'œil (Djokic *et al.*, 2023 ; Hollett, 2006). Idéalement, il convient de multiplier les sources de prélèvement pour augmenter les chances d'isoler la bactérie.

La recherche de brucelles se fait le plus souvent sur prélèvement sanguin. Cette méthode est considérée comme la méthode la plus pratique à réaliser sur des animaux récemment infectés et n'ayant pas encore reçu de traitement antibiotique. Cependant, elle n'est pas idéale dans les autres cas en raison de l'excrétion intermittente de la bactérie. Une culture sanguine négative ne doit donc pas faire exclure une infection à *B. canis*.

La culture bactériologique reste une méthode peu sensible puisque *B. canis* n'est isolée que dans environ 10 % des cas confirmés. La sensibilité dépendra de nombreux facteurs comme le type d'échantillon analysé, la méthode bactériologique employée, le stade de l'infection et la viabilité des bactéries dans le prélèvement. Elle est également coûteuse et longue, il faut au minimum dix jours pour obtenir un résultat. La culture bactérienne est donc une méthode utile mais qui reste limitée car elle ne permet pas de conclure face à un animal ayant un résultat négatif. La méthode PCR est donc de plus en plus utilisée, tout comme la spectrométrie de masse, bien que leur performance soit variable (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023).

b. Méthodes de détection moléculaire

- PCR

La méthode PCR permet de rechercher *B. canis* à partir d'un échantillon de sang total, de semence, de sécrétions vaginales, ou encore d'urine. Cette méthode est souvent utilisée en deuxième intention, pour confirmer l'infection à *B. canis* chez des chiens séropositifs ou lors de culture positive (Anses, 2022).

Bien que la sensibilité et la spécificité de la méthode PCR varient selon les amorces utilisées et les gènes ciblés, cette méthode serait plus sensible et spécifique que l'hémoculture (Cosford, 2018). En effet, une série d'études a montré que la PCR sur sang

total donnait des résultats correspondant à ceux obtenus en hémoculture, et qu'elle pouvait même dans certains cas avoir une efficacité diagnostique supérieure à celle de l'hémoculture (Keid *et al.*, 2007a, 2007b). En particulier, la méthode PCR sur sang total avec les amorces dirigées contre la séquence de l'*Internal Transcribed Spacer* (ITS) 16S-23S de l'ADN recombinant a montré une sensibilité et une spécificité de 100 % dans cette étude (Keid *et al.*, 2007b). Une autre étude a évalué la performance de la méthode PCR en temps réel utilisant les sondes Taqman® et ciblant les gènes *IS711*, *bcsp31* et *per* et a montré que la PCR en temps réel était plus sensible que les tests PCR conventionnels, et que le test PCR en temps réel ciblant le gène *IS711* était spécifique et très sensible pour la recherche de brucelles (Bounaadja *et al.*, 2009). Dans une autre étude, les auteurs ont conçu une méthode pour le dépistage de l'ADN et l'affectation directe à l'une de 12 espèces du genre *Brucella*, basée sur 17 polymorphismes nucléotidiques (SNP) pertinents. Ces marqueurs ont été testés sur la collection du Laboratoire européen de référence pour la brucellose contenant 1440 ADN extraits de souches de brucelles et ont montré des résultats satisfaisants avec 100 % de concordance aux tests d'inclusivité et d'exclusivité (Girault *et al.*, 2022). Le LNR pour la brucellose utilise la méthode PCR en temps réel ciblant les gènes *IS711*, *bcsp31* et *per* pour arriver à détecter le genre de la bactérie. Il utilise ensuite la méthode décrite dans l'étude de Girault *et al.* (2022) pour arriver à déterminer l'espèce de brucelle (Ferreira Vicente, 2024).

La PCR a pour avantages une détection rapide et fiable des chiens infectés dans un élevage, ainsi que l'établissement de l'empreinte génétique de la bactérie afin de pouvoir plus facilement tracer la maladie et déterminer les sources d'infection (Cosford, 2018). Cependant, c'est une méthode coûteuse et qui n'est pas encore disponible dans de nombreux laboratoires d'analyses (Kauffman et Petersen, 2019). Enfin, il peut y avoir des résultats faussement négatifs lorsque le nombre de bactéries dans l'échantillon se trouve en dessous du seuil de détection de la PCR (Anses, 2022).

- *Spectrométrie de masse*

La confirmation de l'espèce bactérienne peut aussi se faire par spectrométrie de masse (utilisation du MALDI-TOF). Cependant, cette méthode d'analyse donne parfois de faux résultats positifs en identifiant une autre bactérie du genre *Ochrobactrum* (Fontbonne et Ponsart, 2023).

Tableau 3 : Récapitulatif des tests de dépistage à réaliser selon la présence ou non de signes cliniques évocateurs de la brucellose canine (Anses, 2022)

Présence de signes cliniques évocateurs	Diagnostic indirect	Diagnostic direct	Marche à suivre
Oui	Oui, test <i>B. canis</i> (+ test pour les brucelles lisses si situation à risque)	Oui	Si séronégatif : répéter le test sérologique dans quatre à six semaines Si absence d'isolement de la bactérie : répéter les prélèvements
Non	Oui, test rapide <i>B. canis</i>	Non	Si test sérologique positif, confirmer avec un test de diagnostic direct

8. La maladie chez l'homme

La brucellose canine est une zoonose mineure mais émergente. Elle est probablement sous-estimée car il existe de nombreux cas asymptomatiques et il n'y a pas encore de technique de diagnostic indirecte validée, ce qui rend sa détection difficile (Anses, 2022). De plus, c'est une maladie peu connue et donc très rarement recherchée en pratique (Fontbonne et Ponsart, 2023).

A. Voies de transmission

L'infection a lieu à travers les muqueuses, une peau lésée ou par voie respiratoire, soit par contact direct avec des chiens infectés soit de manière indirecte par l'intermédiaire de produits contaminés (liquide séminal, urine, écoulements vaginaux, produits d'avortement, sang, etc.) (Djokic *et al.*, 2023).

B. Signes cliniques

Lors de forme symptomatique, les signes cliniques sont le plus souvent non spécifiques, frustrés et sans gravité : signes cliniques pseudo-grippaux (maux de têtes et de dos, fatigue, sueurs nocturnes, fièvre ondulante), perte de poids et d'appétit, lymphadénomégalie périphérique. Certains signes cliniques plus graves ont été cependant rapportés comme des douleurs articulaires, polyarthrites, hépatomégalies, splénomégalies, méningites et endocardites (Anses, 2022 ; Fontbonne, 2020b ; Kauffman et Petersen, 2019).

C. Populations à risque

En raison de leurs contacts plus fréquents avec les chiens, les vétérinaires, éleveurs de chiens et soigneurs animaliers sont plus à risque d'être exposés à la brucellose canine. Les propriétaires de chiens ont aussi un risque augmenté d'être infectés par la brucellose canine lors de l'adoption d'un chien contaminé. Les personnes ayant une immunité diminuée (enfants, femmes enceintes, personnes âgées et personnes immunodéprimées) ont un risque accru de développer une zoonose à *B. canis*. Ils doivent donc éviter tout contact avec des chiens suspects ou à risque d'être infectés. De manière générale, une bonne hygiène est nécessaire (Kauffman et Petersen, 2019).

D. Cas récents en Europe

Plusieurs cas humains d'infection à *B. canis* ont été rapportés récemment en Europe.

Aux Pays-Bas, le premier cas humain de brucellose canine a été diagnostiqué en 2021 chez une éleveuse de chiens de 55 ans qui présentait des signes cliniques non spécifiques (fièvre, maux de tête, malaise...). Une enquête de santé publique a révélé que la brucellose canine avait été introduite dans son élevage à l'été 2020, suite à l'importation d'une chienne russe, détectée séropositive après avoir produit une portée de mort-nés quelques mois après son introduction. La chienne avait été euthanasiée mais les autres chiens de l'élevage n'avaient pas été testés à l'époque. En mai 2021, une autre chienne de son élevage a donné naissance à une portée de mort-nés. L'éleveuse a effectué une réanimation (bouche à bouche) sur les chiots et a été en contact direct avec le placenta et les sécrétions de parturition. L'éleveuse aurait donc été contaminée lors de cet événement. En effet, les chiots mort-nés ont été déclarés infectés à *B. canis* quelques jours plus tard (Kolwijck *et al.*, 2022).

En 2022, en Angleterre, une femme de 61 ans a aussi été contaminée par la brucellose canine après avoir adopté une chienne par l'intermédiaire d'une association recueillant les chiens errants d'Ukraine et de Biélorussie. La chienne était gestante et la propriétaire a été en contact direct avec le matériel de parturition lors de la mise bas. L'infection s'est rapidement propagée au sein de son foyer et trois de ses quatre autres chiens ont été testés positifs à *B. canis*. La propriétaire a été hospitalisée deux semaines et tous ses chiens ont dû être euthanasiés (Djokic *et al.*, 2023).

9. Prévention de la maladie

La prévention de l'infection à *B. canis* repose essentiellement sur la mise en place de mesures d'hygiène. Une bonne hygiène des mains et du matériel utilisé, que ce soit en élevage ou par les vétérinaires, est nécessaire. Le port de gants et d'un masque est indispensable lors de situations à risque (manipulation de fœtus avorté, contact avec un animal suspect...) (Anses, 2022).

Bien qu'il n'existe toujours pas d'obligation de tester les animaux à *B. canis*, il est conseillé de tester les animaux utilisés pour les saillies avant la mise à la reproduction, ainsi que les animaux importés de zones enzootiques (Anses, 2022). Idéalement, il faudrait réaliser un dépistage sérologique sur tout animal présentant des troubles de la reproduction ou d'autres signes cliniques évocateurs de la brucellose canine tels que des discospondylites (Fontbonne et Ponsart, 2023).

À l'échelle des élevages canins, des mesures de biosécurité doivent être mises en place afin de diminuer le risque d'introduction et de propagation de la maladie telle que la mise en place d'une quarantaine systématique de six à huit semaines avec un dépistage sérologique au début et à la fin de celle-ci, la conduite en petits groupes d'animaux et le dépistage régulier des étalons reproducteurs utilisés pour les saillies (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023).

Il n'existe pas de vaccin disponible contre la brucellose canine. Certains vaccins vivants contre d'autres espèces de brucelles utilisés pour les animaux de rente pourraient probablement être efficaces par un mécanisme de protection croisée mais ceux-ci n'ont jamais été testés sur les chiens et présentent un risque de virulence pour les humains (Djokic *et al.*, 2023).

10. Contrôle de la maladie

Lorsque l'infection à *B. canis* est confirmée, il est essentiel de mettre en place rapidement des mesures afin d'éviter une propagation de la maladie, en particulier dans les élevages, ainsi qu'une transmission à l'homme.

Face à un animal infecté, deux options de contrôle sont possibles. La plus efficace est l'euthanasie car elle permet d'assurer la protection des autres animaux mais aussi des personnes en contact avec l'animal atteint. Cependant, cette méthode est le plus souvent peu acceptée par les propriétaires de chiens et les éleveurs. L'autre option pour endiguer la maladie est la stérilisation chirurgicale de l'animal infecté associée à une antibiothérapie de longue durée, avec des contrôles réguliers pour détecter une éventuelle rechute (Anses, 2022 ; Djokic *et al.*, 2023 ; Hollett, 2006).

Dans les élevages, des mesures strictes de biosécurité et de désinfection devront être mises en place en cas d'infection. Les animaux séropositifs devront être strictement isolés et retirés définitivement de l'élevage car ils pourront rester infectés et contagieux toute leur vie. Une fois qu'un cas de brucellose a été confirmé dans l'élevage, il faudra tester tous les animaux et répéter au moins deux fois les tests sérologiques, avec un intervalle de quatre à six semaines entre chaque test. Des prélèvements sur les animaux devront être effectués pour confirmer le diagnostic. Une interruption des échanges d'animaux ainsi que des saillies est nécessaire pendant la période d'assainissement de l'élevage (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023 ; Hollett, 2006). La désinfection des locaux peut se faire avec des ammoniums quaternaires, de l'hypochlorite de sodium à 1 %, des solutions iodées, de l'éthanol à 70 % ou du formaldéhyde, auxquels *B. canis* est sensible (Hollett, 2006).

11. Règlementation actuelle

La brucellose canine n'est pas une maladie à déclaration obligatoire selon l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ou l'Union européenne (UE). La surveillance sérologique systématique n'est donc pas réalisée dans les pays européens (Kolwijck *et al.*, 2022).

En France, la brucellose canine est une maladie à déclaration obligatoire, mentionnée dans l'Annexe 1 de l'arrêté du 3 mai 2022 listant les maladies animales réglementées d'intérêt national et il faut déclarer toute suspicion ou infection aux services vétérinaires départementaux (Anses, 2022 ; Fontbonne et Ponsart, 2023). Néanmoins, il n'existe pas encore de mesures de police sanitaire relatives à la brucellose canine.

Elle est également classée comme bactérie de classe 3 soumise à la réglementation MOT (micro-organismes et toxines hautement pathogènes). Cette réglementation a pour objectif la protection de la santé publique lors de la manipulation des MOT par les laboratoires (Anses, 2022 ; Haut Conseil de la santé publique, 2022).

Deuxième partie : Étude expérimentale

En raison du manque d'informations sur la situation épidémiologique en France, l'objectif initial de notre étude expérimentale était d'essayer d'estimer la séroprévalence de l'infection à *Brucella canis* dans les élevages canins ainsi que de décrire les facteurs d'exposition à l'agent pathogène dans ces élevages.

Dans un premier temps, nous avons essayé de recruter sur la base du volontariat un maximum d'élevages canins, présentant ou non des troubles de la reproduction, afin de rechercher la présence d'infection à *B. canis* parmi leurs animaux. La brucellose canine étant une maladie règlementée, nous devions en informer les éleveurs et leur expliquer qu'en cas de résultat positif, nous étions obligés d'en informer la DDPP. Suite à cette information, la majorité des éleveurs a refusé de participer à l'étude, par peur d'une mise en quarantaine de leur élevage et de pertes économiques. Un questionnaire détaillant les pratiques d'élevage, les résultats de reproduction ainsi que les mesures de biosécurité mises en place dans l'élevage a été complété pour chaque élevage visité.

Face à la difficulté à recruter et le nombre d'élevages déjà recrutés étant trop faible, nous avons donc décidé d'analyser les échantillons sanguins de chiennes non stérilisées d'élevages canins ayant consulté au service de reproduction de l'EnvA (CERCA) et ayant fait l'objet d'un ou de plusieurs dosages de progestérone entre mai 2022 et août 2023, afin d'y rechercher la présence de *B. canis* et d'obtenir un échantillon de taille plus importante.

1. Matériels et méthodes

A. Matériels

a. *Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat*

Nous avons inclus dans notre étude un certain nombre d'élevages canins français, présentant ou non des troubles de la reproduction, sur une période allant d'octobre 2022 à décembre 2023.

Les animaux prélevés dans chaque élevage étaient des chiens mâles ou femelles, âgés de plus de neuf mois et étant des anciens, futurs ou actuels reproducteurs de l'élevage. Les chiens prélevés présentaient ou non des troubles de la reproduction. Les animaux de moins de neuf mois n'étaient pas inclus dans l'étude.

b. *Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA*

Nous avons inclus dans cette étude les sérums de chiennes non stérilisées, provenant d'élevages canins français, ayant consulté au CERCA entre le 02/05/2022 et le 29/12/2023 pour dosage de progestérone dans un contexte de suivi de chaleurs. Ces sérums étaient conservés dans la sérothèque de l'EnvA.

B. Méthodes

a. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat

- *Préparation du questionnaire*

Un questionnaire était soumis aux éleveurs participant à l'étude. Pour les élevages dans lesquels nous nous sommes déplacés, nous posions nous-mêmes les questions aux éleveurs et remplissions le questionnaire à leur place. Lorsque les échantillons étaient directement envoyés à l'Anses par le vétérinaire traitant, le questionnaire était rempli soit par le vétérinaire traitant, soit par l'éleveur lui-même. Il était envoyé au préalable soit par email, lorsqu'il était encore en version papier, soit via un lien, une fois la version en ligne créée.

Le questionnaire portait sur différentes thématiques (**Annexe 1**). Étaient abordés les thématiques de la reproduction (modalités de mise à la reproduction, troubles de la reproduction au sein de l'élevage...), les flux d'animaux au sein de l'élevage (introduction de nouveaux animaux, ventes/cessions d'animaux, visites de chiens extérieurs à l'élevage...), les installations et les mesures de biosécurité mises en place (sectorisation, protocole de nettoyage/désinfection, visites de personnes extérieures). Enfin, une section était consacrée à des questions sur les connaissances qu'avaient les éleveurs sur la brucellose canine.

Durant la période de notre étude, le questionnaire à destination des éleveurs a été plusieurs fois modifié. Au départ, il était sous forme papier puis une version en ligne a été créée. Certaines questions ont été rajoutées au fur et à mesure afin de préciser les réponses des éleveurs et de le rendre plus simple à remplir. Notamment, des questions sur les ventes/cessions d'animaux au cours des 12 derniers mois ont été ajoutées. Au lieu de demander pour chaque animal de l'élevage si celui-ci présentait des troubles de la reproduction ou d'autres signes cliniques comme c'était le cas dans le premier questionnaire, des questions générales sur la présence ou non de troubles de la reproduction ou d'autres maladies dans l'élevage ont été rajoutées, ce qui rendait plus simple le remplissage du questionnaire. Plutôt que de proposer plusieurs désinfectants à cocher aux éleveurs, ils avaient la possibilité de remplir eux-mêmes le nom de ceux qu'ils utilisaient, et de choisir parmi les différentes méthodes de nettoyage et de désinfection celles qu'ils réalisaient. Le fond du questionnaire est donc toujours resté le même tout au long de notre étude, malgré ces légères modifications. Cependant, il n'a pas toujours été possible de recontacter les éleveurs après ces modifications pour leur poser les questions ajoutées dans le nouveau questionnaire. Ainsi, les réponses à certaines questions peuvent être manquantes pour quelques élevages. De même, les éleveurs ne savaient pas toujours répondre aux questions précises telles que le nombre de ventes/cessions d'animaux ou le nombre exact de mort-nés au cours des 12 derniers mois. Ils avaient alors la possibilité de répondre « je ne sais pas ».

- *Réalisation des prélèvements, traitement et stockage des échantillons*
 - Visites dans les élevages et recueil des échantillons

Pour les élevages les plus proches de l'EnvA (élevages d'Île de France et périphérie), nous nous sommes directement déplacés pour réaliser les prélèvements et faire remplir les questionnaires aux éleveurs. Pour ceux plus éloignés, les prélèvements sanguins étaient réalisés par le vétérinaire traitant et directement envoyés au LNR de l'Anses à Maisons-Alfort pour analyse, avec le questionnaire rempli par l'éleveur.

Lors de notre visite dans les élevages, toutes les précautions ont été prises afin de nous protéger d'éventuels agents pathogènes et d'éviter d'en introduire dans les élevages. Nous étions équipés de surchaussures, d'une combinaison de protection intégrale, d'une charlotte, de gants et de masques FFP2. Nous changions de gants et nous désinfectons nos mains avec du gel hydroalcoolique entre chaque animal prélevé.

Au commencement de notre étude, il n'y avait pas de règles strictes définies concernant le nombre d'animaux à prélever dans chaque élevage. S'il y avait des animaux avec des troubles de la reproduction, ceux-ci étaient systématiquement prélevés et selon la compliance des animaux et le temps dont disposait l'éleveur, un maximum d'autres chiens de l'élevage étaient également prélevés.

En février 2023, le projet de recherche « Estimation de la circulation de *Brucella canis* dans les élevages canins et facteurs associés au risque d'infection en France » porté par l'Anses de Maisons-Alfort en collaboration avec l'EnvA et l'ENVT et financé par la Société Centrale Canine a débuté. Nous avons donc suivi les règles prescrites par ce projet pour choisir le nombre de chiens à prélever dans les élevages visités suite à l'initiation de ce projet. Ainsi, pour les quatre derniers élevages visités, les animaux étaient prélevés selon des règles plus strictes. Le nombre de chiens minimal à prélever par élevage était déterminé en prenant en compte le nombre total de chiens de plus de neuf mois de l'élevage et sur la base d'un taux hypothétique d'infection intra-élevage de 15 %. En acceptant un risque d'erreur bêta de 5 %, tous les chiens de plus de neuf mois ayant des troubles de la reproduction étaient systématiquement prélevés, les autres étaient choisis au hasard et s'il y avait des chiens provenant de l'étranger, nous essayions de les prélever. En cas de séropositivité d'un animal, tous les chiens de l'élevage devaient théoriquement être testés ensuite, ce qui obligeait à revenir dans l'élevage sauf si le vétérinaire traitant pouvait réaliser les prélèvements et les envoyer à l'Anses. Pour les élevages de moins de 10 animaux, tous les animaux de plus de neuf mois étaient prélevés.

□ Traitement et stockage des échantillons

Pour les élevages dans lesquels nous nous sommes déplacés, nous réalisons nous-mêmes les prises de sang. Nous prélevons les chiens sur tube sec sans gélose et nous laissons le sang coaguler à température ambiante, au maximum une demi-journée, le temps de finir les prélèvements et de rentrer. Une fois revenus à l'EnvA, nous centrifugons les tubes pendant 5 minutes à 3500 xg puis nous mettons le sérum dans un tube sur lequel étaient écrites les informations de l'animal prélevé. Lorsqu'il était possible de déposer les sérums le jour même à l'Anses, nous les leur apportons directement après centrifugation, à température ambiante. Si l'Anses était fermée après notre retour des élevages, nous congelons les sérums après centrifugation, à -20°C jusqu'à pouvoir les apporter à l'Anses pour qu'ils soient analysés.

• *Tests sérologiques effectués par le LNR brucellose*

Une fois déposés à l'Anses, les échantillons étaient stockés à 4°C au réfrigérateur si l'analyse pouvait être réalisée dans les 48 heures. Si ce n'était pas le cas, les échantillons étaient congelés à -20°C, en attendant que l'analyse puisse être faite. Les échantillons étaient ensuite soumis à deux tests sérologiques, le test par la méthode d'agglutination en plaques (MAT) et celui par la technique du *Lateral Flow Immunoassay* (LFIA). Nous détaillerons ces tests un peu plus loin.

- *Analyse des réponses au questionnaire*

Nous avons analysé les réponses des différents élevages au questionnaire par l'intermédiaire de calcul de fréquences pour la plupart des questions posées aux éleveurs dans les différentes thématiques, afin de savoir si certains facteurs d'exposition étaient présents dans ces élevages. Nous avons également calculé la moyenne du nombre d'adultes reproducteurs, mais aussi de femelles reproductrices et d'étalons au sein de nos élevages, afin d'avoir une indication sur leur taille.

b. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA

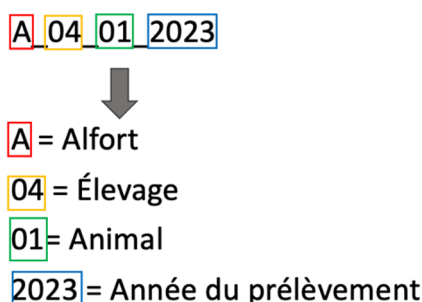
- *Recueil et traitement des échantillons*

Lors de leur consultation au CERCA, les chiennes suivies pour suivi de chaleurs étaient prélevées pour dosage de progestérone. Un prélèvement sanguin sur tube sec sans gélose était réalisé puis envoyé au biopôle de l'EnvA, dans une pochette réfrigérée. Après centrifugation et analyse, les tubes contenant les fonds de sérum restaient soit au réfrigérateur à 4°C pour les échantillons prélevés le matin, soit quelques heures à température ambiante pour les échantillons prélevés l'après-midi, avant d'être congelés et stockés en fin de journée dans la sérothèque de l'EnvA, à -20°C.

En raison de contraintes liées au règlement général sur la protection des données, le comité éthique de l'EnvA (COMERC) nous a autorisé à utiliser ces prélèvements à condition de les anonymiser, ce qui empêchait de revenir vers les éleveurs en cas d'échantillon positif. Nous avons donc anonymisé les tubes à l'aide d'un code de façon à ce que les animaux et les élevages restent anonymes, mais tout en permettant de savoir quels chiens faisaient partie du même élevage (Figure 6). Les informations recueillies pour chaque animal étaient sa date de naissance, sa race, le département d'origine de son élevage ainsi que la date du prélèvement.

Pour construire le code, la méthodologie était la suivante. Chaque code commençait par la lettre A pour préciser que l'échantillon provenait de la sérothèque de l'EnvA. Nous avons donné un numéro à chaque élevage pour les rendre anonymes. Le premier chiffre du code correspondait donc au numéro attribué à l'élevage d'où provenait le chien. Nous avons également donné un numéro à chaque chien au sein d'un élevage. Le deuxième numéro correspondait ainsi au numéro attribué au chien. Enfin, nous précisions l'année du prélèvement à la fin du code.

Figure 6 : Code utilisé pour l'anonymisation des échantillons



Dans ce code, A correspond à Alfort (en rouge). Le premier numéro (en jaune) correspond au numéro attribué à l'élevage d'où provient le chien testé. Le deuxième numéro (en vert) correspond au numéro attribué au chien. L'année du prélèvement est précisée (en bleu).

Une fois les codes créés, nous avons effectué une sélection des échantillons. Pour les femelles prélevées plusieurs fois au cours de la période définie pour l'étude, nous avons choisi de sélectionner l'échantillon le plus récent. En effet, étant donné qu'il existe un délai de séroconversion de minimum quatre semaines après infection et que la séropositivité lors d'infection à *B. canis* est de longue durée, il nous paraissait plus logique de garder l'échantillon le plus récent pour savoir si une chienne était séropositive.

Nous avons donc été chercher les tubes de sérum sélectionnés à la sérothèque, puis nous les avons anonymisés. Pour cela, nous décollions les étiquettes collées initialement par le CERCA le jour du prélèvement de sang et nous recollions une étiquette avec le code anonyme.

Lors du recueil des tubes de sérum, nous avons dû rejeter de nombreux échantillons. En effet, une grande quantité des étiquettes sur lesquelles étaient inscrites les informations sur le chien prélevé s'étaient décollées des tubes lors de la première congélation de l'échantillon. Nous ne savions donc pas à quels chiens certains tubes de sérum appartenaient et donc s'ils faisaient partie de ceux que nous devons récupérer pour notre étude. De même, certains tubes contenaient trop peu de sérum, nous ne pouvions donc pas les utiliser. Nous n'avons donc pas pu exploiter une grande partie des sérums de la sérothèque pour ces raisons.

Pour essayer d'éviter que le sérum des tubes ne soit décongelé, nous sortions les tubes au fur et à mesure du congélateur et les remettions le plus rapidement possible à -20°C, après avoir fait l'échange d'étiquettes. Cependant, le volume de sérum dans les tubes était faible et nous ne pouvions pas toujours éviter une décongélation. Nous avons ensuite transporté ces échantillons dans une boîte isotherme pour les déposer à l'Anses de Maisons-Alfort, afin qu'ils soient analysés.

- *Tests sérologiques effectués par le LNR brucellose*

Une fois déposés à l'Anses, les échantillons étaient stockés à 4°C au réfrigérateur si l'analyse pouvait être réalisée dans les 48 heures après décongélation. Si ce n'était pas le cas, les échantillons étaient recongelés à -20°C, en attendant que l'analyse puisse être faite. Tous les animaux de l'étude ont été soumis au test de diagnostic indirect par la méthode d'agglutination en plaques (MAT). Habituellement, l'Anses réalise en parallèle un test de diagnostic indirect par la technique du *Lateral Flow Immunoassay* (LFIA) mais en raison

d'une difficulté à se procurer les tests, ceux-ci ont été réalisés uniquement sur sept échantillons. Nous détaillerons ces tests dans la partie suivante.

- *Analyse des données recueillies sur les échantillons*

Nous avons calculé l'âge médian des chiennes de l'étude afin d'avoir une idée de la répartition de l'âge de celles-ci. Nous avons également calculé la fréquence de chiennes pour les départements les plus représentés afin de décrire la répartition géographique des chiennes de l'étude.

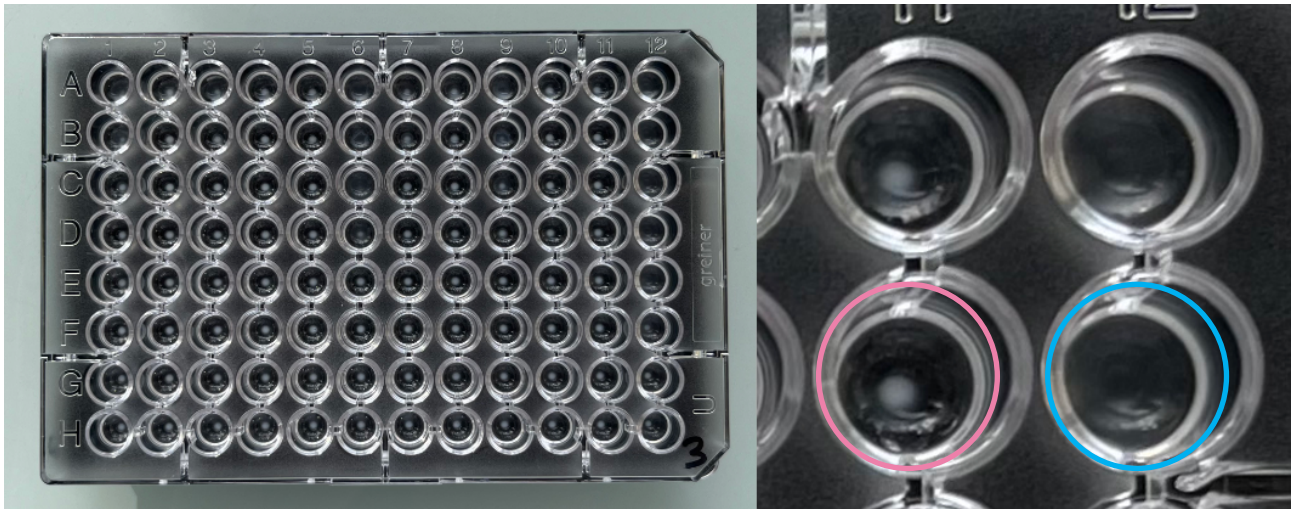
c. Méthodes communes aux études n°1 et n°2

Les analyses sérologiques des échantillons des deux études ont été réalisées par le LNR pour la brucellose de l'Anses situé à Maisons-Alfort. Pour effectuer ces analyses, l'Anses utilise deux méthodes en parallèle : la méthode d'agglutination en plaques (MAT) et la technique du *Lateral Flow Immunoassay* (LFIA). Dès l'obtention d'un résultat positif à l'un de ces deux tests sérologiques, l'animal est considéré comme séropositif.

- *Méthode d'agglutination en plaques (MAT)*

La MAT (Figure 7) est une technique effectuée systématiquement par l'Anses de Maisons-Alfort. Le protocole réalisé est celui décrit par Alton *et al.* (1988). Plusieurs dilutions du sérum de l'animal et d'un diluant constitué par l'Anses (mélange d'une solution mère de soluté salin formolé à 0,06 % et d'une solution mère de chlorure de sodium à 3,5 %) sont effectuées. Un antigène *B. canis* est ajouté dans chaque cupule puis les plaques sont mises à incuber 48 h à 37°C. L'antigène utilisé est préparé par l'Anses, toujours selon les recommandations d'Alton *et al.* (1988), à partir d'une souche de *B. canis* non mucoïde délivrée par un laboratoire polonais. Lorsqu'il n'y a pas d'anticorps anti-*B. canis* dans le sérum, l'antigène précipite et forme un point blanc au fond de la cupule, l'animal est alors séronégatif. En présence d'anticorps anti-*B. canis*, un complexe antigène-anticorps se forme et la cupule reste trouble. L'animal est considéré séropositif si un complexe se forme à partir d'une dilution de 1/20. L'avantage de cette technique est qu'elle nécessite une faible quantité de sérum (15 µL) et qu'elle serait relativement fiable (Se = 100% ; Sp = 97 % ; pour un seuil de détection de 1/20) (Ferreira Vicente, 2024). L'inconvénient principal est qu'elle repose sur une lecture à l'œil nu, l'opérateur peut donc parfois avoir des difficultés à trancher entre un résultat faiblement positif et un résultat négatif.

Figure 7 : Technique de la MAT utilisée par le LNR brucellose



Photographies d'une plaque utilisée pour la MAT. Lorsqu'il n'y a pas d'anticorps anti-B. canis, l'antigène précipite et forme un point blanc au fond de la cupule (cercle rose). En présence d'anticorps, un complexe antigène-anticorps se forme et la cupule reste trouble (cercle bleu, ici témoin positif).

- *Lateral Flow Immunoassay (LFIA)*

L'Anses utilise aussi pour certains échantillons la technique du LFIA (Figure 8), en parallèle de la MAT. Le test utilisé est le test Kitvia® (référence : B7RB2103) du laboratoire français FINALAB (**Annexe 2**). Il s'agit d'un test de diagnostic rapide, sous forme de bandelette, également utilisé par de nombreux vétérinaires. Cette technique est donc facile d'emploi et est relativement fiable (Se = 100 %, Sp = 99 %) (Ferreira Vicente, 2024).

Figure 8 : Test de diagnostic rapide (LFIA) utilisé par le LNR brucellose



La bandelette du haut montre un test LFIA positif (flèche rouge, utilisation d'un témoin positif). La bandelette du bas montre un test LFIA négatif.

2. Résultats

A. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat

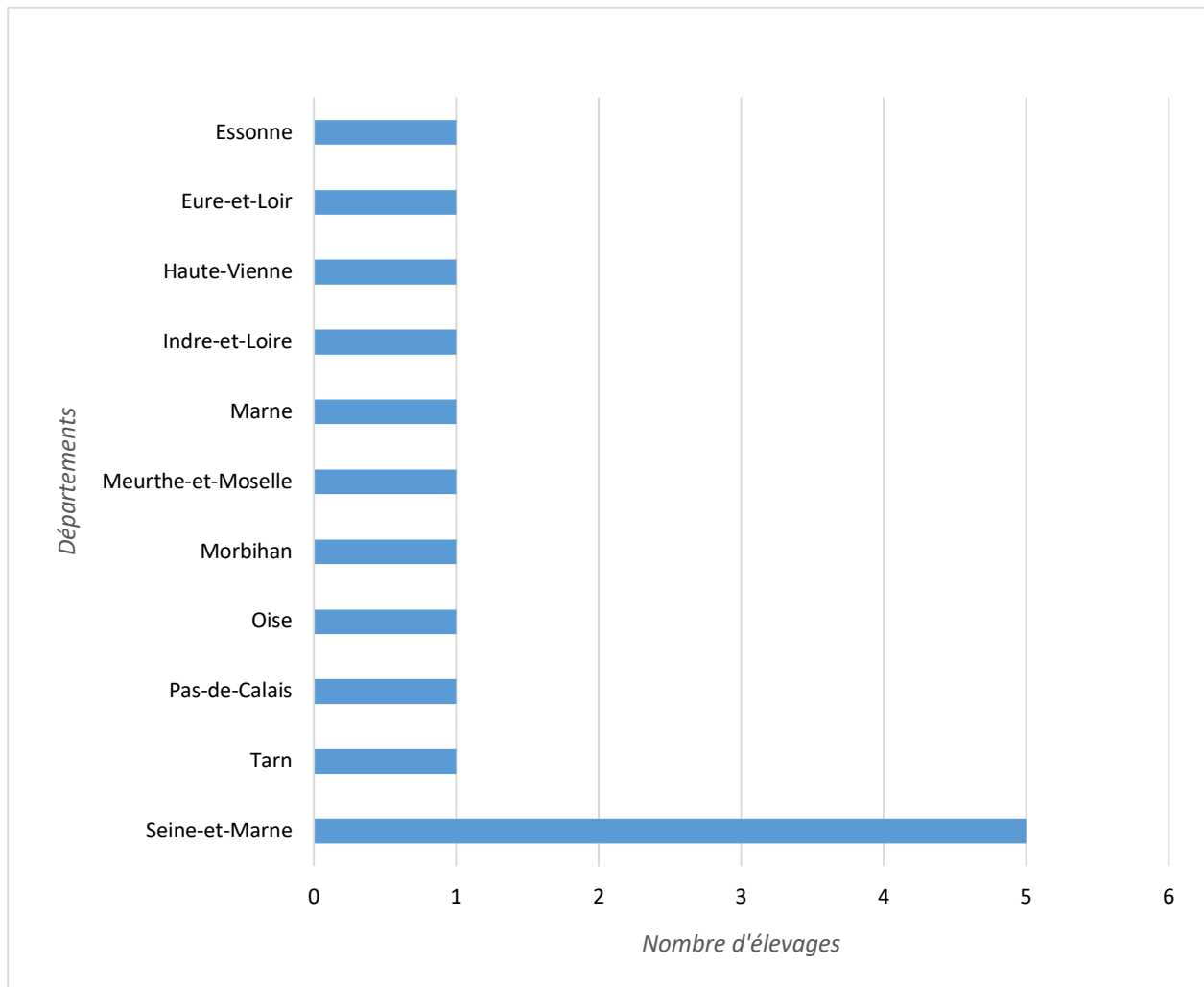
a. Analyse des données recueillies

- *Répartition géographique*

Quinze élevages canins ont accepté de participer à notre étude entre octobre 2022 et décembre 2023.

Les élevages de notre étude provenaient de 11 départements français différents. Un tiers des élevages provenaient de Seine et Marne (Figure 9).

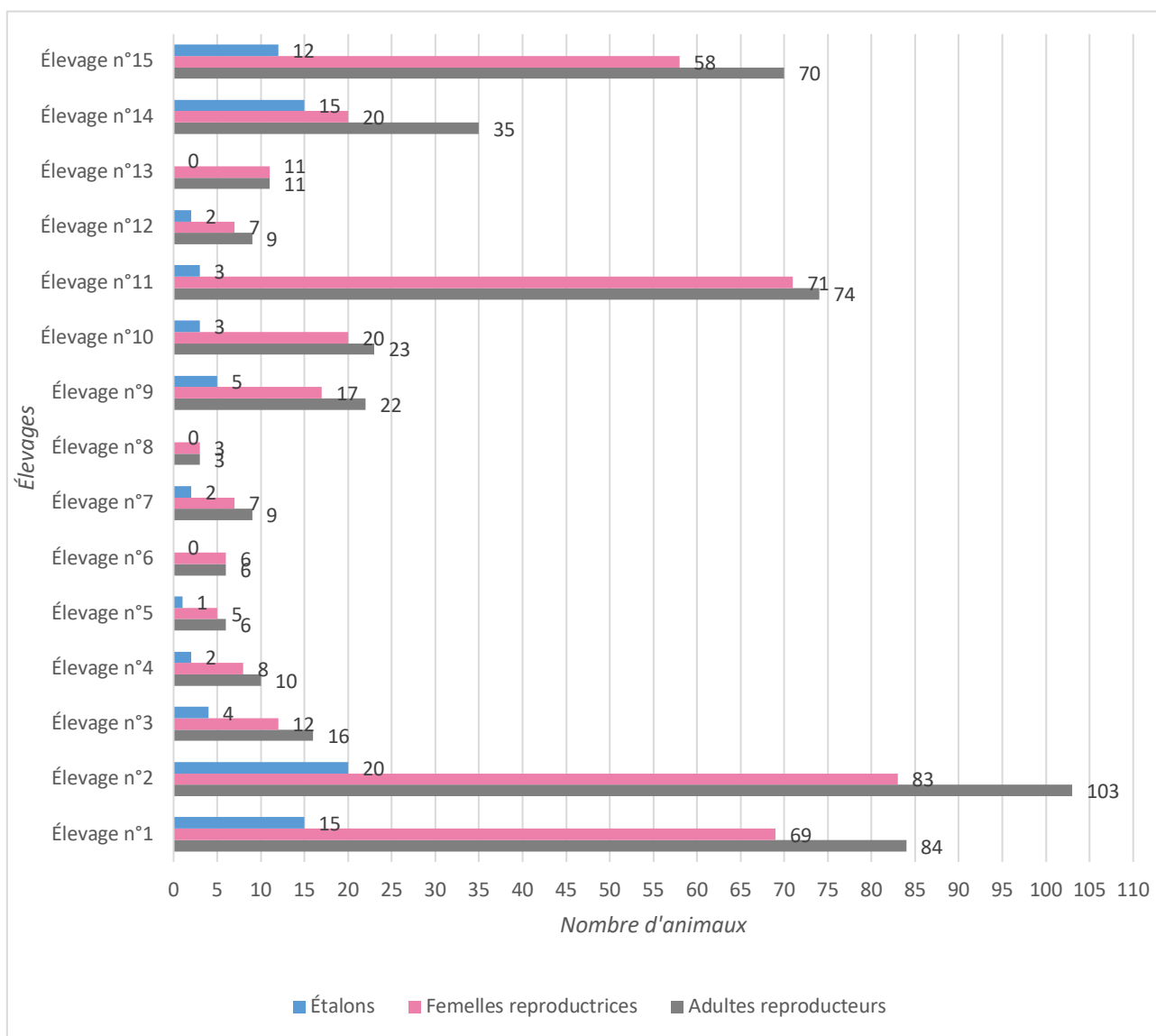
Figure 9 : Départements d'origine des élevages inclus dans l'étude



- *Effectifs des élevages*

Les élevages étaient constitués de 33 adultes reproducteurs en moyenne, le plus petit élevage possédant trois adultes reproducteurs et le plus grand 103 adultes reproducteurs (Figure 10). Il y avait en moyenne 27 femelles reproductrices et six étalons par élevage.

Figure 10 : Effectifs des élevages de l'étude



- *Nombre de chiens prélevés par élevage*

Le nombre de chiens prélevés par élevage en fonction de l'effectif total (chiens adultes, reproducteurs ou non) de chaque élevage est représenté dans le tableau ci-dessous (Tableau 4). Les lignes grisées correspondent aux élevages dont le nombre de chiens minimal à prélever était déterminé sur la base d'un taux d'infection intra-élevage de 15 % et d'un risque d'erreur bêta par défaut de 5 %, tout en prenant en compte la taille de l'élevage.

Tableau 4 : Nombre de chiens prélevés par élevage

Élevage	Nombre de chiens prélevés	Effectif total de l'élevage
Élevage n°1	22	100*
Élevage n°2	10	103*
Élevage n°3	20	36
Élevage n°4	14	17
Élevage n°5	10	11
Élevage n°6	6	6
Élevage n°7	10	10
Élevage n°8	3	4
Élevage n°9	10	26
Élevage n°10	24	31
Élevage n°11	74	74
Élevage n°12	16	16
Élevage n°13	12	15
Élevage n°14	7	55
Élevage n°15	10	70

**Il s'agit d'un nombre approximatif donné par les éleveurs lorsqu'ils ne connaissent pas le nombre exact d'animaux dans leur élevage.*

b. Analyse des réponses au questionnaire

- *Flux d'animaux au sein des élevages de l'étude*
 - Introduction de chiens dans les élevages

Il avait été posé la question aux éleveurs s'ils avaient introduit au cours des 12 derniers mois des chiens dans leur élevage, ainsi que leur provenance. Le tableau ci-dessous (Tableau 5) récapitule le nombre d'élevages ayant introduit des animaux au cours des 12 derniers mois, ainsi que le nombre d'élevages ayant introduit des animaux provenant de France et/ou de l'étranger, au cours des 12 derniers mois.

Tableau 5 : Introduction de chiens au cours des 12 derniers mois dans les élevages de l'étude

Question posée	Nombre d'élevages concernés (%)
Introduction de chiens au cours des 12 derniers mois	5 (45,5)*
Introduction de chiens provenant de France au cours des 12 derniers mois	4 (33,3)**
Introduction de chiens provenant de l'étranger au cours des 12 derniers mois	2 (14,3)***

*11 éleveurs ont répondu à cette question

**12 éleveurs ont répondu à cette question

*** 14 éleveurs ont répondu à cette question

Parmi les quatre élevages ayant introduit des chiens provenant de France, un seul a été en mesure de nous nous communiquer le nombre exact de chiens introduits (un chien dans son cas).

Parmi les élevages qui avaient introduit des animaux provenant de l'étranger, deux ont répondu aux questions subsidiaires : un a déclaré avoir importé un chien du Royaume-Uni et l'autre d'Ukraine, sans préciser le nombre.

Par ailleurs, sur les 11 élevages qui ont déclaré avoir introduit des chiens au cours des 12 derniers mois, aucun n'a réalisé de dépistage des maladies infectieuses lors de l'introduction d'un nouvel animal, qu'il provienne de France ou de l'étranger.

□ Ventes/cessions d'animaux

En ce qui concerne la vente ou la cession de chiens, tous les élevages en avaient cédés ou vendus au cours des 12 derniers mois, en France et/ou à l'étranger (Tableau 6).

Tableau 6 : Ventes/cessions de chiens au cours des 12 derniers mois dans les élevages de l'étude

Question posée	Nombre d'élevages concernés (%)
Vente/cession de chiens de l'élevage au cours des 12 derniers mois	11 (100)*
Vente/cession de chiens à destination de la France au cours des 12 derniers mois	10 (90,9)*
Vente/cession de chiens à destination de l'étranger au cours des 12 derniers mois	3 (30)**

*11 éleveurs ont répondu à cette question

**10 éleveurs ont répondu à cette question

Pour les élevages qui avaient vendu ou cédé des chiens en France, aucun n'a donné le nombre de chiens correspondant. Pour ceux qui ont vendu ou cédé des chiens à l'étranger, un a déclaré avoir vendu un étalon en Allemagne, un autre a vendu quatre chiots (un en Allemagne, un en Belgique, un en Israël et un en Suisse). Le troisième élevage n'a pas précisé le nombre de chiens vendus ou cédés ni le pays de destination.

□ Prêts de reproducteurs

Nous avons demandé aux éleveurs s'ils prêtaient des reproducteurs à d'autres élevages ou à des particuliers pour des saillies. Parmi les huit élevages ayant répondu à la question, six (75,0 %) effectuaient des prêts de reproducteurs. Les éleveurs n'ont pas donné le nombre de chiens prêtés au cours des 12 derniers mois.

□ Participation à des regroupements canins

Nous avons posé la question de savoir si les élevages enquêtés avaient participé à des regroupements canins en France ou à l'étranger au cours des 12 derniers mois. Le Tableau 7 ci-dessous présente les différentes réponses.

Tableau 7 : Participation des animaux de l'élevage à des regroupements canins

Question posée	Nombre d'élevages concernés (%)
Participation à des regroupements canins (expositions, concours...) au cours des 12 derniers mois	7 (53,8)*
Participation à des regroupements canins en France au cours des 12 derniers mois	6 (46,2)*
Participation à des regroupements canins à l'étranger au cours des 12 derniers mois	4 (30,8)*

**13 éleveurs ont répondu à ces questions*

Les éleveurs n'ont pas donné le nombre de regroupements canins auxquels ils avaient participé au cours des 12 derniers mois. Les regroupements canins à l'étranger auxquels ont participé les éleveurs de cette étude ont eu lieu en Belgique, en Suisse et en Allemagne.

□ Autres activités au sein de l'élevage

Nous avons cherché à savoir si les élevages exerçaient d'autres activités à part l'élevage de chiens.

Six des quinze élevages de l'étude (40 %) ont déclaré exercer d'autres activités en parallèle de l'élevage canin. Parmi ces activités, nous retrouvons la pension pour animaux (six élevages), le toilettage canin (un élevage), les cours de dressage, éducation et agility (un élevage). En outre, deux élevages élevaient d'autres espèces d'animaux (poules et ovins pour le premier, animaux de ferme pédagogique pour le deuxième).

- *La reproduction au sein des élevages*
 - Modalités de reproduction au sein des élevages

Nous nous sommes ensuite intéressés au nombre de mises à la reproduction et au nombre de mises-bas dans les élevages au cours des 12 derniers mois. Sur les 11 élevages ayant répondu à ces questions, le nombre moyen de mises à la reproduction était de 12 et le nombre moyen de mises bas était de 10.

Nous avons également posé la question aux éleveurs des modalités de saillies dans leur élevage (Tableau 8). Parmi les 15 élevages, aucun n'utilisait de semence réfrigérée ou congelée, seules la saillie naturelle et l'insémination en semence fraîche étaient pratiquées.

Tableau 8 : Modalités de saillies pratiquées dans les élevages de l'étude

Question posée	Nombre d'élevages (%)
Élevage pratiquant la saillie naturelle	14 (93,3)*
Élevage pratiquant l'insémination en semence fraîche	15 (100)*
Utilisation d'étalons internes à l'élevage	11 (73,3)*
Saillies extérieures	10 (66,7)*

**15 éleveurs ont répondu à ces questions*

- Troubles de la reproduction au sein des élevages

Toute une partie de notre questionnaire concernait les troubles de la reproduction au sein des élevages durant les 12 derniers mois. Parmi les 15 élevages de l'étude, cinq (33 %) avaient eu des chiens qui présentaient des troubles de la reproduction.

Le tableau ci-dessous (Tableau 9) récapitule pour chaque trouble de la reproduction le nombre d'élevages concernés. Dans ce tableau, un arrêt de gestation désigne une résorption embryonnaire avant 40 jours de gestation. Après 40 jours de gestation, il s'agit d'un avortement. Lors de mortalité néonatale, on distingue les mort-nés, la mortalité précoce lors d'un décès à moins de 48h de vie et la mortalité tardive lors d'un décès entre deux et 21 jours de vie.

Tableau 9 : Troubles de la reproduction dans les élevages de l'étude

Trouble de la reproduction	Nombre d'élevages concernés (%)
Troubles de la reproduction chez les mâles, tous problèmes confondus	5 (33,3)*
Prostatite	1 (6,7)*
Orchite	0 (0)*
Infertilité :	11 (73,3)*
<i>Femelles infertiles</i>	8 (53,3)*
<i>Portées de taille réduite</i>	5 (33,3)*
Arrêt de gestation	3 (33,3)**
Avortements	3 (42,9)***
Mortalité néonatale :	10 (71,4)****
<i>Mort-nés</i>	6 (42,9)****
<i>Mortalité précoce (décès à moins de 48h de vie)</i>	7 (50)****
<i>Mortalité tardive (décès entre 2 et 21 jours de vie)</i>	5 (35,7)****

*15 éleveurs ont répondu à cette question

**9 éleveurs ont répondu à cette question

***7 éleveurs ont répondu à cette question

****14 éleveurs ont répondu à cette question

Parmi les trois élevages ayant eu des arrêts de gestation, un élevage a rapporté avoir eu un seul arrêt de gestation et un autre élevage a rapporté avoir eu deux arrêts de gestation au cours des 12 derniers mois.

Concernant le nombre d'avortements, un élevage sur les trois concernés a rapporté avoir eu un seul avortement au cours des 12 derniers mois. Les autres élevages n'avaient pas précisé le nombre d'avortements.

Sur les six élevages ayant eu des mort-nés, un élevage a rapporté avoir eu deux mort-nés et un autre élevage a rapporté avoir eu un seul mort-né au cours des 12 derniers mois.

Parmi les sept élevages concernés par la mortalité précoce (décès à moins de 48h de vie), deux élevages ont rapporté avoir eu un seul cas de mortalité précoce, un élevage a rapporté avoir eu deux cas de mortalité précoce et un autre élevage a été confronté à une vingtaine de cas de mortalité précoce, au cours des 12 derniers mois.

Enfin, un élevage parmi les cinq concernés a rapporté avoir eu une vingtaine de cas de mortalité tardive (décès entre deux et 21 jours de vie) au sein de son élevage, au cours des 12 derniers mois.

- *Troubles locomoteurs*

Parmi les élevages, deux élevages sur 13 (15,4 %) avaient eu des troubles locomoteurs chez leurs animaux au cours des 12 derniers mois. Un des éleveurs a eu des chiots de huit semaines présentant les signes suivants : tremblements, pertes d'équilibre, raideur et parésie du train arrière ; tandis que l'autre éleveur n'avait pas précisé le type de troubles locomoteurs. Aucun des élevages avec troubles locomoteurs n'avait d'animaux avec des signes de boiterie, de faiblesse musculaire ou de discospondylite, qui peuvent être des signes évocateurs de brucellose.

- *Biosécurité dans les élevages*

- Mesures de biosécurité à l'introduction d'un nouvel animal et lors de visites de personnes et de chiens extérieurs à l'élevage

Certaines questions de notre questionnaire portaient sur les mesures de biosécurité dans les élevages et notamment lors de l'introduction d'un nouvel animal et lors de visites de personnes et de chiens extérieurs à l'élevage (Tableau 10).

Tableau 10 : Récapitulatif des principales mesures de biosécurité mises en place à l'introduction d'un nouvel animal ou lors de visites de personnes et de chiens extérieurs à l'élevage

	Nombre d'élevages concernés (%)
Quarantaine :	5 (33,3)*
7-14 j	3 (60)**
>14 j	2 (40)**
Respect du principe de la marche en avant dans l'élevage	5 (35,7)***
Visites de personnes extérieures à l'élevage	14 (100)***
Visites de chiens extérieurs à l'élevage	11 (78,6)***
Présence d'un local d'accueil pour les personnes extérieures	7 (63,6)****
Présence d'une aire de détente pour les chiens extérieurs	4 (36,4)****

*15 éleveurs ont répondu à cette question

**5 éleveurs ont répondu à cette question

***14 éleveurs ont répondu à cette question

****11 éleveurs ont répondu à cette question

□ Sectorisation des élevages

Nous nous sommes intéressés à la sectorisation dans les élevages et en particulier à la présence de zones dédiées aux saillies, à la quarantaine, de locaux dédiés aux adultes et de locaux de saillies (Tableau 11).

Tableau 11 : Sectorisation au sein des élevages de l'étude

Question posée	Nombre d'élevages concernés (%)
Présence d'un local de saillie	1 (6,7)*
Présence d'une maternité	14 (93,3)*
Présence d'une zone dédiée à la quarantaine	7 (46,7)*
Présence de locaux dédiés aux adultes	10 (66,7)*
Utilisation de matériel spécifique de zones	8 (53,3)*

*15 éleveurs ont répondu à cette question

□ Nettoyage et désinfection

Concernant le nettoyage et la désinfection des locaux, cinq élevages (33 %) réalisaient un nettoyage, un rinçage puis une désinfection, en trois étapes distinctes. La majorité des élevages mélangeaient le détergent et le désinfectant dans le même seau et/ou utilisaient un produit 2 en 1 appliqué en une fois (Tableau 12). Néanmoins, tous les élevages (100 %) réalisaient une désinfection.

Tableau 12 : Protocoles de nettoyage et de désinfection au sein des élevages

Protocole de nettoyage et de désinfection	Nombre d'élevages concernés (%)
Nettoyage, rinçage et désinfection en 3 étapes distinctes	5 (33,3)*
Détergent et désinfectant mélangés dans le même seau	6 (40)*
Utilisation d'un produit 2 en 1 appliqué en une fois	6 (40)*

*15 éleveurs ont répondu à cette question

Parmi les produits nettoyants/désinfectants utilisés par les éleveurs, étaient cités l'eau de javel (cinq élevages), les ammoniums quaternaires (trois élevages), le glutaraldéhyde (deux élevages), l'acide peracétique (un élevage), les produits de marque saniterpen® (sept élevages), crésyl® (un élevage) et sanitol® (un élevage).

□ Mesures de biosécurité lors de la mise-bas et gestion des fœtus avortés

Parmi les élevages de notre étude, un élevage sur les 13 ayant répondu (7,7 %) a déclaré que son personnel portait systématiquement des équipements de protection (gants) lors de la manipulation de produits de la mise-bas (annexes fœtales, avortons...).

Cinq élevages sur 11 (45,5 %) possédaient un lave-main dans la zone de mise bas.

Lors d'avortements, 11 éleveurs sur les 13 ayant répondu à la question éliminaient les fœtus par l'intermédiaire d'une entreprise spécialisée (équarrissage ou corps ramené chez le vétérinaire traitant), trois éleveurs sur les 13 les éliminaient avec les déchets ménagers ou par enfouissement (Tableau 13).

Tableau 13 : Gestion des fœtus avortés au sein des élevages

Gestion des fœtus avortés	Nombre d'élevages concernés (%)
Élimination par une entreprise spécialisée	11 (84,6)*
Élimination avec les déchets ménagers	1 (7,7)*
Enfouissement	2 (15,4)*

*13 éleveurs ont répondu à cette question

□ Dépistages de maladies au sein des élevages

Nous avons demandé aux éleveurs s'ils procédaient à des tests de dépistage dans leurs élevages. Six élevages sur 13 (46,2 %) avaient déjà réalisé des tests de dépistage, à la suite de signes évocateurs d'une maladie. Parmi les maladies dépistées, nous avons la brucellose canine uniquement (quatre élevages), la brucellose canine et des mycoplasmes (un élevage), et l'herpesvirus canin (un élevage).

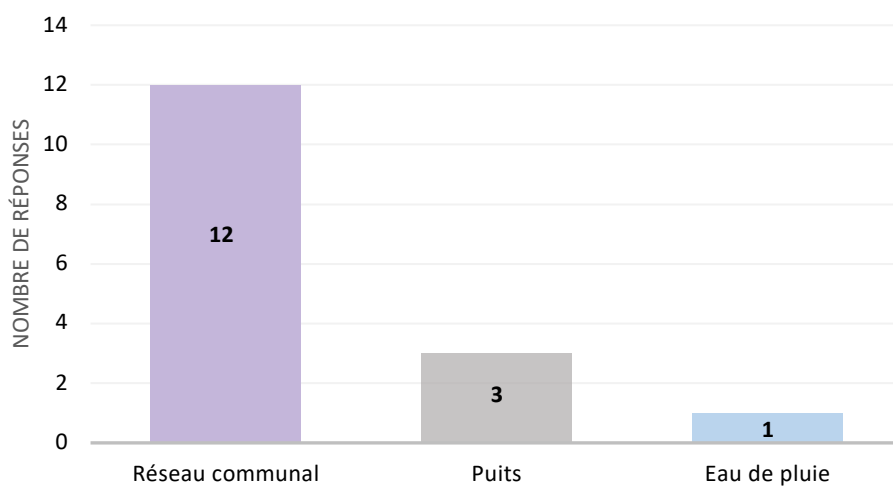
Parmi les élevages ayant déjà dépisté la brucellose canine, trois avaient réalisé seulement un dépistage sérologique, un avait réalisé un dépistage sérologique et un dépistage bactériologique sur tissus et liquides biologiques, et un élevage n'avait pas précisé le type de dépistage réalisé.

□ Autres mesures de biosécurité

L'eau étant un vecteur potentiel de maladies, des questions sur la provenance de l'eau utilisée pour abreuver les chiens (Figure 11) ainsi que sur la possibilité que les chiens des élevages soient en contact avec les eaux usées ont été posées aux éleveurs.

Un éleveur sur 13 (7,7%) a déclaré que ses chiens pouvaient potentiellement entrer en contact avec les eaux usées.

Figure 11 : Provenance de l'eau utilisée pour abreuver les chiens au sein des élevages



- *Connaissances des éleveurs sur la brucellose canine*

Parmi les 13 éleveurs ayant répondu à cette question, sept (53,8%) ont déclaré connaître la brucellose canine. Parmi ceux-ci, six (85,7%) ont déclaré savoir également que la brucellose canine pouvait être transmise du chien à l'homme.

c. Résultats des tests de diagnostic direct et indirect

Sur les 15 élevages inclus dans notre étude, cinq élevages possédaient des chiens séropositifs à *B. canis* (33,3 %). Le tableau ci-dessous récapitule le nombre de séropositifs ainsi que le nombre de chiens infectés par élevage (Tableau 14). Pour tous les animaux séropositifs, les différents résultats de chaque animal séropositif vis-à-vis des deux tests sérologiques ont été résumés dans un tableau (Tableau 15).

Tableau 14 : Résultats des tests de diagnostic direct et indirect dans les élevages de l'étude

Élevage	Nombre de chiens prélevés	Nombre de chiens séropositifs	Nombres de chiens positifs à la MAT	Nombre de chiens positifs en LFIA
Élevage n°1	22	0	0	0
Élevage n°2	10	0	0	Non réalisé
Élevage n°3	20	0	0	0
Élevage n°4	14	0	0	0
Élevage n°5	10	1	0	1
Élevage n°6	6	0	0	0
Élevage n°7	10	0	0	0
Élevage n°8	3	0	0	0
Élevage n°9	10	0	0	0
Élevage n°10	24	3	3	1
Élevage n°11	74	24	24	18
Élevage n°12	16	3	3	2
Élevage n°13	12	0	0	0
Élevage n°14	7	3	3	0
Élevage n°15	10	0	0	0

Les lignes en orange représentent les élevages avec des chiens séropositifs

Tableau 15 : Résultats aux deux tests sérologiques des animaux séropositifs

Nombre de chiens	Positivité en MAT	Négativité en MAT	TOTAL
Positivité en LFIA	21	1	22
Négativité en LFIA	12	0	12
TOTAL	33	1	34

Sur les 34 chiens séropositifs, nous observons que la majorité des chiens étaient positifs à la MAT (n = 33 ; fréquence = 97,1 %), et que plus de la moitié étaient positifs à la technique du LFIA (n = 22 ; fréquence = 64,7 %).

Un animal positif par la technique du LFIA était positif également à la MAT dans 95,5 % des cas, alors qu'un animal positif à la MAT était positif à la technique du LFIA dans 63,6 % des cas.

De plus, un chien séropositif de notre étude a, par la suite, été confirmé infecté par la brucellose canine grâce à une recherche de la bactérie par culture bactériologique et PCR (élevage n°11). En effet, l'Anses de Maisons-Alfort peut réaliser des tests de diagnostic direct dans trois situations : lorsqu'un animal est positif aux tests sérologiques et/ou lorsqu'un animal a été en contact avec un animal infecté par *B. canis* et/ou lorsqu'un animal présente des signes cliniques évocateurs de brucellose canine. Le LNR réalise en parallèle des cultures bactériologiques et une recherche de la bactérie par PCR. Un animal est considéré comme infecté par *B. canis* uniquement si la bactérie est isolée lors de ces tests de diagnostic direct. Cependant, nous n'avons pas pu obtenir plus d'informations sur les échantillons prélevés chez cet animal pour la recherche de *B. canis* ni sur le test de diagnostic direct qui a permis d'isoler la bactérie chez ce chien.

Un suivi quatre à six semaines plus tard a été réalisé chez deux des élevages ayant eu des animaux séropositifs. Cela concernait quatre des 34 chiens séropositifs et confirmait bien la séropositivité détectée lors du premier test sérologique, sauf chez un chien de l'élevage n°12 qui avait été testé positif à la MAT et négatif à la technique du LFIA au premier test sérologique puis négatif aux deux tests sérologiques un mois plus tard.

B. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA

a. Analyse des données recueillies

L'échantillon de l'étude était constitué de 390 chiennes non stérilisées, ayant été prélevées au CERCA pour dosage de progestérone entre le 02/05/2022 et le 29/12/2023.

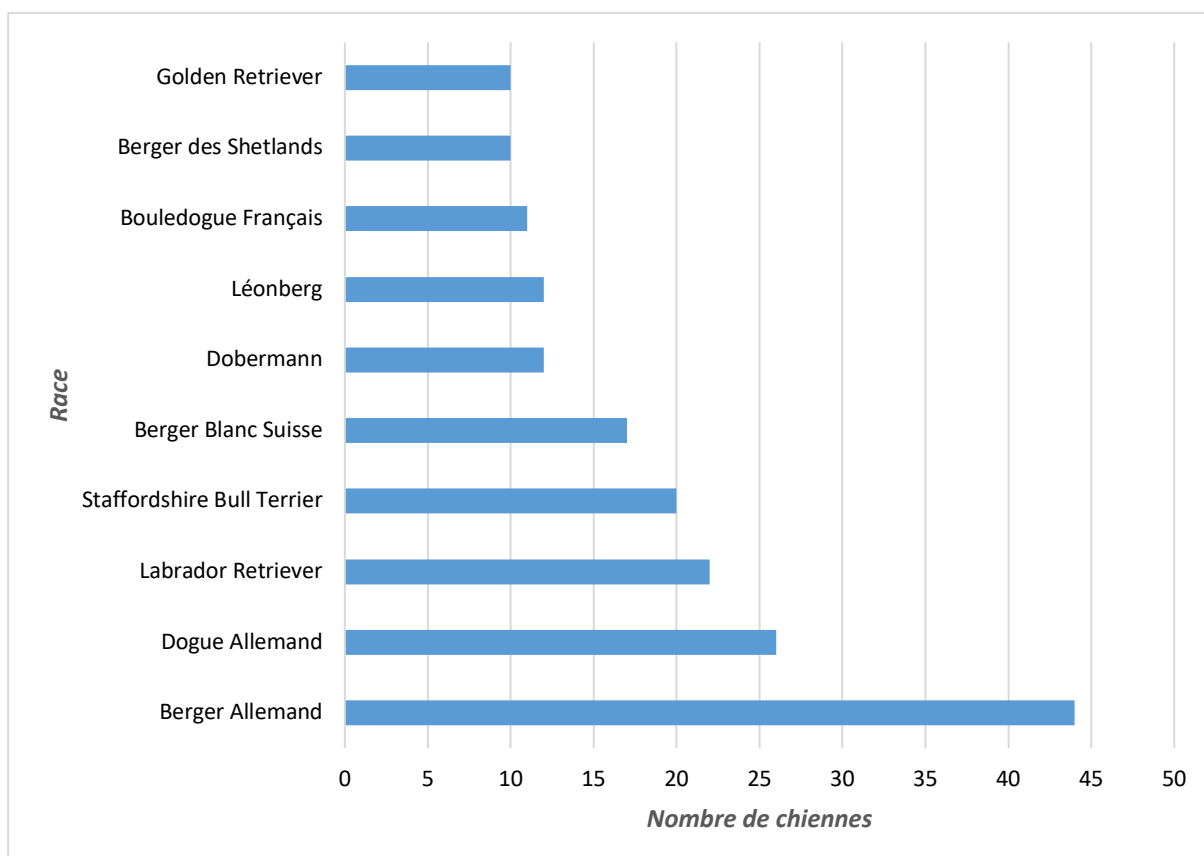
- *Âge*

L'âge médian était de 5,2 ans (écart interquartile = [3,8 ; 6,4] ans). La médiane a été réalisée sur 386 animaux car quatre animaux avaient une date de naissance inconnue.

- *Races représentées*

Parmi les 390 chiennes de l'étude, 91 races ont été recensées. Les trois races les plus représentées étaient le Berger Allemand (n = 44 ; fréquence = 11,3 %), le Dogue Allemand (n = 26 ; fréquence = 6,7 %) et le Labrador Retriever (n = 22 ; fréquence = 5,6 %) (Figure 12).

Figure 12 : Répartition du nombre de chiennes en fonction de la race

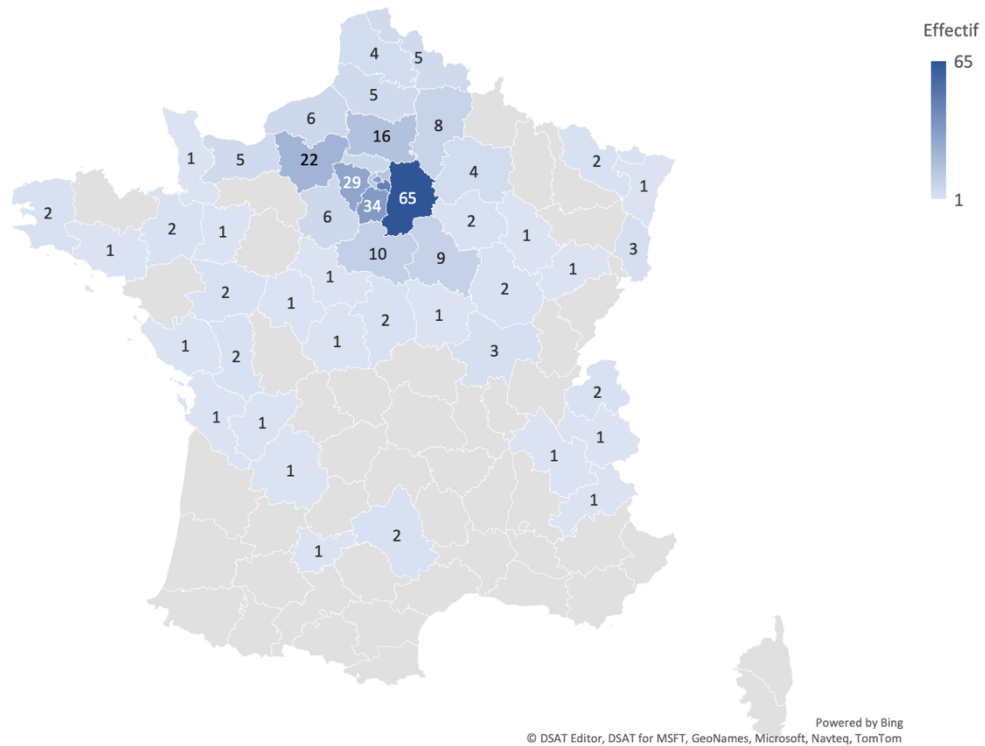


Les dix races les plus fréquentes (effectif ≥ 10) ont été représentées.

- *Répartition géographique*

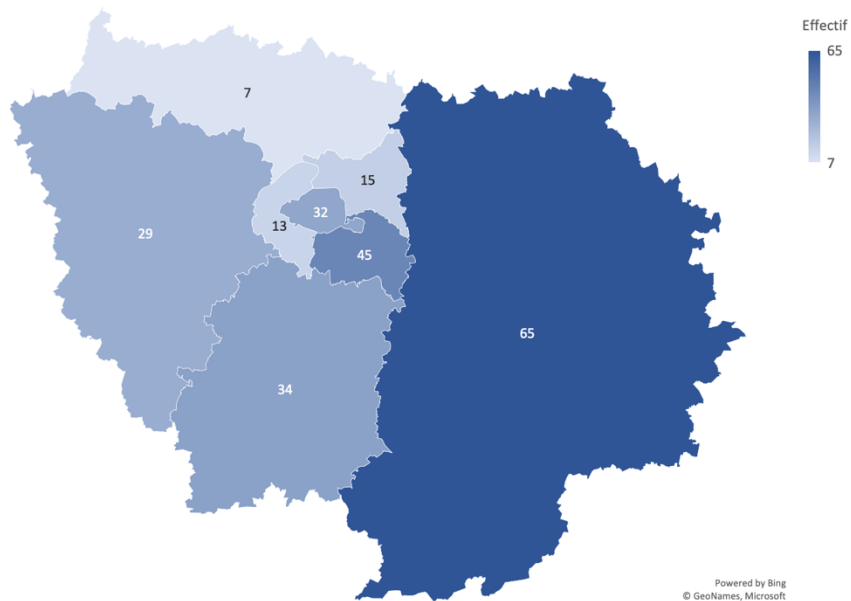
Dans notre échantillon, 384 chiennes vivaient en France (Figure 13) et six chiennes provenaient de pays européens autres que la France : une d'Allemagne, deux de Belgique, une de Hongrie, une du Luxembourg et une d'Italie. Parmi les chiennes françaises, la majorité vivaient en Ile-de-France (n = 240 ; fréquence = 61,5 %) et notamment en Seine et Marne (n = 65 ; fréquence = 16,7 %), dans le Val de Marne (n = 45 ; fréquence = 11,5 %) ou dans l'Essonne (n = 34 ; fréquence = 8,7 %) pour les trois départements les plus représentés (Figure 14).

Figure 13 : Départements de provenance des chiennes françaises ayant été incluses dans l'étude



Parmi les chiennes françaises de notre étude, plus de la moitié (61,5 %) provenaient d'Île de France.

Figure 14 : Répartition en Île de France des chiennes ayant été incluses dans l'étude



b. Résultats des tests de diagnostic indirect

Sur l'ensemble des animaux testés, quatre animaux étaient positifs à la MAT. La technique du LFIA a été réalisée sur trois de ces quatre animaux et a été négative pour chacun. Pour le quatrième, le LFIA n'a pas pu être réalisé car il n'y avait pas assez de sérum dans le tube (Tableau 16). Cette technique a également été réalisée sur quatre autres chiennes, négatives à la MAT. La technique du LFIA a donc été utilisée sur sept des 390 chiennes de l'étude, car l'Anses ne disposait pas d'assez de kits pour tous les animaux.

Ainsi, sur les 390 chiennes testées, quatre étaient séropositives à *B. canis* ($n = 4$; fréquence = 1,0 %). Ces quatre chiennes ne provenaient pas du même élevage ni du même département et n'étaient pas de la même race (Tableau 17). L'âge médian était de 7,55 ans (écart interquartile = [3,42 ; 8,67] ans).

Tableau 16 : Résultats des analyses sérologiques des quatre chiennes séropositives

Code de l'animal	MAT	LFIA
A175_01_22	Positif	Négatif
A269_02_22	Positif	Négatif
A266_01_22	Positif	Non réalisé
A202_02_23	Positif	Négatif

Tableau 17 : Informations sur les chiennes séropositives à *B. canis*

Code de l'animal	Âge (ans)	Race	Département
A175_01_22	6,42	Dobermann	71
A269_02_22	8,67	Dogue Allemand	17
A266_01_22	12,67	Labrador Retriever	92
A202_02_23	3,42	Staffordshire Bull Terrier	91

3. Discussion

Le premier objectif de cette étude était d'essayer d'estimer la séroprévalence de l'infection à *Brucella canis* dans les élevages canins. Le second était de décrire les facteurs d'exposition à l'agent pathogène dans ces élevages.

Notre étude a permis de montrer que la brucellose canine était probablement présente au sein des élevages canins français. En effet, nous avons retrouvé des chiens séropositifs au sein des 15 élevages de notre première étude, prélevés entre octobre 2022 et décembre 2023, mais aussi parmi les chiennes de notre deuxième étude, suivies au CERCA entre mai 2022 et août 2023.

A. Étude n°1 : Élevages canins recrutés sur la base du volontariat

a. Taux de séropositivité à la brucellose canine dans nos échantillons

Notre première étude nous a permis de calculer un taux de séropositivité au sein des 15 élevages canins français volontaires. En effet, nous avons mis en évidence la présence de 34 chiens séropositifs répartis dans cinq élevages, ce qui nous a permis de calculer un taux de séropositivité de 33,3 %. En raison de plusieurs limites que nous exposerons dans la partie suivante, nos échantillons, bien que provenant d'élevages dispersés sur le territoire, n'étaient pas représentatifs de la population des chiens d'élevages français. Nous n'avons donc pas pu inférer nos résultats à cette population et calculer la séroprévalence de l'infection à *B. canis* dans les élevages canins français.

b. Facteurs d'exposition à la brucellose canine dans les élevages canins

Par l'intermédiaire de notre questionnaire, nous avons cherché à savoir si certaines pratiques d'élevage mises en place par les éleveurs canins étaient contraires aux recommandations et donc à risque de favoriser l'introduction et la propagation de *B. canis* dans leurs élevages. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux réponses aux questions de l'ensemble des élevages concernant les flux d'animaux et la biosécurité. En effet, nous pouvons supposer que les flux d'animaux au sein de l'élevage et le respect des mesures de biosécurité conditionnent l'introduction et la propagation d'agents pathogènes dans les élevages, tels que *B. canis*, et pourraient donc constituer des facteurs de risque associés à l'infection.

- Flux d'animaux au sein des élevages

Tout d'abord, il est ressorti de notre questionnaire que le prêt de reproducteurs à d'autres élevages ou à des particuliers pour des saillies (au sein ou en dehors de l'élevage) était une pratique fréquente parmi les élevages de l'étude (75 % parmi les huit élevages ayant répondu à la question), de même que la participation à des regroupements canins (53,8 % parmi les 13 élevages ayant répondu à la question). De plus aucun des élevages canins ayant introduit des chiens au cours des 12 derniers mois ne réalisait de dépistage des maladies infectieuses lors de l'introduction d'un nouvel animal, qu'il provienne de France ou de l'étranger. Ces flux d'animaux entre les élevages et l'extérieur, ainsi que l'introduction d'animaux sans aucun dépistage sont donc des pratiques répandues parmi les élevages de notre étude et elles constituent un risque important d'introduction d'agents pathogènes tels que *B. canis*.

- *Biosécurité dans les élevages*

- Mesures de biosécurité à l'introduction d'un nouvel animal et lors de visites de personnes et de chiens extérieurs à l'élevage

Concernant la biosécurité dans les élevages, les recommandations sont de pratiquer une quarantaine au sein d'un local dédié pour tous les animaux entrant dans l'élevage, qu'il s'agisse d'animaux nouvellement introduits ou d'animaux revenant d'un séjour à l'extérieur (saillie extérieure, participation à des regroupements canins, etc.) (Beltra, 2020). Nous avons pu constater que plus de deux tiers des élevages interrogés (66,7 %) ne pratiquaient pas de quarantaine systématique à l'introduction d'un animal. De même, le principe de marche en avant, qui permet d'éviter une dissémination des germes des secteurs les plus « sales » aux secteurs les plus « sensibles » (Grandjean *et al.*, 2014) n'était respecté que par 35,7 % des 14 élevages ayant répondu à la question.

Concernant les visites de chiens et de personnes extérieures, il est recommandé de disposer d'un local d'accueil du public et d'une aire de détente réservée aux chiens extérieurs à l'élevage, pour qu'ils n'entrent pas en contact avec les animaux de l'élevage (Beltra, 2020). Le respect d'un local d'accueil du public était respecté dans plus de la moitié des 11 élevages ayant répondu à la question (63,6 %). Cependant, la présence d'une aire de détente pour les chiens extérieurs à l'élevage n'était pas une pratique répandue (seulement 36,4 % des 11 élevages ayant répondu). La plupart des élevages ne se protégeaient donc pas assez vis-à-vis de l'introduction de germes du milieu extérieur vers leurs élevages.

- Sectorisation des élevages

L'Arrêté du 3 Avril 2014 définit des règles sanitaires à respecter dans les élevages canins et notamment la présence d'une sectorisation permettant de séparer les individus de statuts physiologiques différents dans des pièces ou locaux séparés (Beltra, 2020). La plupart des éleveurs avaient un local réservé à la maternité (93,3 %) et des locaux réservés aux adultes (66,7 %) mais la présence d'un local de saillie et d'une zone dédiée à la quarantaine était peu répandue (respectivement 6,7 % et 46,7 %). De plus, à peine plus de la moitié des éleveurs (53,3 %) utilisaient du matériel spécifique à chaque zone. Cela est problématique sachant que la brucellose canine se transmet notamment lors de la mise-bas et qu'elle peut être véhiculée via des objets de l'environnement. Il est donc essentiel que le matériel utilisé lors de la mise-bas reste dans ce secteur.

- Nettoyage et désinfection

Concernant les pratiques de nettoyage et de désinfection, tous les élevages de l'étude réalisaient une désinfection, ce qui est plutôt positif. Cependant, seulement 33,3 % des éleveurs pratiquaient un protocole de nettoyage, rinçage et désinfection en trois étapes distinctes, conformément aux recommandations (Grandjean *et al.*, 2014). Le risque d'un protocole de nettoyage/désinfection mal réalisé est une augmentation de la pression infectieuse dans l'élevage et l'apparition de bactéries résistantes. En outre, une désinfection sans nettoyage préalable est inefficace.

□ Mesures de biosécurité lors de la mise-bas et gestion des fœtus avortés

Les mesures de biosécurité lors de la mise-bas ainsi que la gestion des fœtus avortés sont des points essentiels dans la prévention de l'infection à la brucellose canine.

Contrairement à ce qui est recommandé, seul un élevage sur les 13 ayant répondu a déclaré que son personnel portait des équipements de protection (juste des gants) lors de la manipulation des produits de la mise-bas. Cela est trop peu et constitue un fort risque pour ces élevages. En effet, en cas de chiennes gestantes infectées par *B. canis*, les fœtus avortés et les produits de la mise-bas sont très chargés en brucelles. Ne pas porter d'équipements de protection expose les éleveurs à un fort risque zoonotique mais aussi les autres chiens de l'élevage, puisque les éleveurs peuvent alors retransmettre à d'autres chiens l'agent pathogène.

Concernant la gestion des fœtus avortés, trois élevages sur 13 (23,1 %) les éliminaient par un autre biais que par une entreprise spécialisée (élimination avec les déchets ménagers ou par enfouissement), ce qui constitue un risque de dissémination des brucelles dans l'environnement de l'élevage. De plus, l'enfouissement des animaux morts est interdit depuis 2016.

- *Connaissances des éleveurs sur la brucellose canine*

Notre questionnaire a permis de révéler que presque la moitié des 13 éleveurs ayant répondu à la question (46,2 %) ne connaissait pas l'existence de la brucellose canine et donc de son potentiel zoonotique. Ce chiffre est inquiétant en raison de l'impact sanitaire et économique non négligeable que la brucellose canine peut avoir au sein des élevages canins et de son potentiel zoonotique.

Pour conclure, notre questionnaire nous a permis de montrer qu'au sein des élevages canins ayant participé à notre étude, une grande partie de ceux-ci ne respectaient pas les recommandations en termes de conduite d'élevage et de biosécurité, ce qui constitue un risque non négligeable de propagation rapide de la brucellose canine en cas d'introduction de celle-ci dans ces élevages. Nous avons aussi pu voir que la brucellose canine n'était pas une maladie connue de la plupart des éleveurs, qui pouvaient ainsi s'exposer sans le savoir à un risque de zoonose, notamment lors de la mise-bas de leurs chiennes.

c. Réponses aux questionnaires des cinq élevages possédant des chiens séropositifs

Nous nous sommes ensuite intéressés aux réponses aux questionnaires des cinq élevages dans lesquels des chiens séropositifs avaient été détectés, afin de rechercher s'ils avaient des points communs qui pourraient expliquer la présence de ces séropositifs.

- *Flux d'animaux*

Trois élevages sur les quatre ayant répondu à la question avaient introduit des chiens provenant d'élevage français, sans tests de dépistage avant l'introduction. Il est intéressant de noter qu'un seul des élevages (élevage n°11) avait importé un ou des chiens de l'étranger (Ukraine, nombre d'importations non précisé) au cours des 12 derniers mois. Par ailleurs, cet élevage est celui dans lequel la brucellose canine a été isolée chez un chien.

- *Effectifs et mise à la reproduction*

Nous nous sommes demandé si les animaux séropositifs provenaient plutôt d'élevages dans lesquels l'effectif de chiens et/ou le nombre de mises à la reproduction étaient importants ou s'il s'agissait plutôt de petits élevages (Tableau 18).

Nous pouvons remarquer que la plupart des élevages, en particulier les élevages n°10, 11, 12 et 14 avaient un nombre d'animaux assez conséquent. Les élevages n°10, 11 et 12 avaient un nombre de mises à la reproduction et de mises-bas assez important également. L'élevage avec le plus grand effectif de chiens est l'élevage n°11 dans lequel un animal infecté a été isolé.

Tableau 18 : Effectifs et mise à la reproduction dans les cinq élevages présentant des chiens séropositifs

Élevage	Effectif total	Nombre de mises à la reproduction	Nombre de mises-bas
Élevage n°5	11	4	0
Élevage n°10	31	20	18
Élevage n°11	74	15	15
Élevage n°12	16	8	8
Élevage n°14	55	Non renseigné	Non renseigné

- *Troubles de la reproduction au sein de ces élevages*

Parmi ces cinq élevages possédant des animaux séropositifs, tous avaient des animaux ayant eu des troubles de la reproduction. Ces troubles concernaient essentiellement les femelles et aucun trouble de la reproduction, telles que des orchites ou des épидидymites, n'avaient été rapportés chez les mâles. De plus, aucun des trois élevages qui avaient répondu à la question ne présentait d'autres signes cliniques, notamment ostéo-articulaires (troubles locomoteurs, boiteries, discospondylites, etc.) évocateurs de brucellose canine. Le Tableau 19 résume les différents types de troubles de la reproduction rencontrés dans ces cinq élevages.

Tableau 19 : Types de troubles de la reproduction rencontrés au sein des cinq élevages présentant des chiens séropositifs

Élevage	Infertilité*	Avortement	Arrêt de gestation	Mortalité néonatale
Élevage n°5	Oui	Non	Non	Non
Élevage n°10	Non	Non	Non	Oui
Élevage n°11	Oui	Oui	Oui	Non renseigné
Élevage n°12	Oui	Oui	Oui	Non
Élevage n°14	Oui	Non renseigné	Non renseigné	Oui

**Le terme infertilité désigne ici la présence de femelles infertiles ou de portées de taille réduite*

Ainsi, il semble que ces élevages étaient plutôt des élevages de moyenne à grande taille, avec un nombre important de mises à la reproduction. Ces élevages présentaient également tous des troubles de la reproduction chez leurs femelles ou de la mortalité néonatale. Un des élevages dans lequel un cas de contamination a été confirmé avait introduit un ou des chiens provenant d'Ukraine, sans tests de dépistage avant l'introduction.

d. Limites de l'étude

- *Échantillonnage*

La première limite de notre étude est le trop faible nombre d'élevages canins ayant accepté de participer à celle-ci. En effet, lors du premier contact avec eux, la plupart des éleveurs semblaient motivés pour participer à l'étude mais refusaient dès que nous évoquions notre obligation d'avertir la DDPP en cas de résultat positif. Le fait qu'il n'existe pas encore de mesures de police sanitaire, d'accompagnement des éleveurs et de subventions clairement définies en cas d'infection à la brucellose canine était un frein pour les éleveurs, qui préféraient ne pas savoir si la brucellose canine circulait dans leur élevage plutôt que de la rechercher au risque d'une mise en quarantaine de celui-ci. Cela constituait donc une difficulté majeure pour la réalisation de notre étude, qui se fondait initialement sur la participation volontaire des éleveurs canins français.

Une autre limite est le nombre de chiens prélevés dans chaque élevage. En effet, nous n'avons pas procédé de la même manière pour tous les élevages. Au commencement de notre étude, nous n'avons pas fixé de nombre minimal de chiens à prélever et nous prélevions systématiquement l'ensemble des chiens de plus de neuf mois, ayant des troubles de la reproduction, ainsi qu'un maximum d'autres chiens de l'élevage, selon le temps dont disposait l'éleveur et la compliance des animaux. Pour les quatre derniers élevages visités, nous avons prélevé un nombre de chiens minimal déterminé sur la base d'un taux d'infection intra-élevage de 15 %, suivant les recommandations de l'Anses, toujours en sélectionnant les chiens de plus de neuf mois ayant des troubles de la reproduction, et en tirant au sort les autres. Ainsi, il est possible que nous n'ayons pas prélevé assez de chiens parmi les élevages dans lesquels nous n'avons pas fixé de nombre minimal de chiens à prélever.

De plus, nous n'avons pas réalisé de tirage au sort, que ce soit pour sélectionner les élevages inclus dans notre étude, mais aussi les chiens à prélever dans chaque élevage.

Notre échantillon n'était donc pas représentatif de la population générale de chiens d'élevages français et ne nous permettait pas de calculer une séroprévalence à l'échelle de cette population, mais seulement un taux de séropositivité au sein de notre échantillon.

- *Suivi des animaux séropositifs*

Pour les animaux séropositifs de la première partie de notre étude (chiens provenant d'élevages volontaires), nous n'avons pas pu obtenir de suivi pour 30 des 34 chiens séropositifs quatre à six semaines plus tard, afin de vérifier que les animaux détectés positifs à la sérologie l'étaient également après ce délai. En effet, soit les éleveurs n'ont pas donné suite, soit les vétérinaires traitants n'ont pas envoyé les prélèvements. Nous avons pu avoir un suivi chez seulement deux des élevages ayant eu des animaux séropositifs, qui confirmait bien la séropositivité détectée lors du premier test sérologique, sauf chez un chien de l'élevage n°12 qui avait été testé positif à la MAT et négatif à la technique du LFIA au premier test sérologique puis négatif aux deux tests sérologiques un mois plus tard. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette négativation au second prélèvement. Une bactériémie intermittente peut s'accompagner d'une baisse de la production d'anticorps qui peuvent alors ne plus être détectables par le test sérologique. Il est également possible que le résultat soit faussement positif et donc que l'animal ne soit pas réellement infecté par *B. canis*. Le cas de ce chien démontre bien la nécessité de réitérer les tests sérologiques quatre à six semaines après l'obtention d'un test sérologique positif, afin de confirmer que l'animal est réellement séropositif et qu'il ne s'agit pas d'un faux-positif.

- *Questionnaires*

Concernant les questions posées aux éleveurs, nous nous sommes heurtés à plusieurs difficultés. Afin de pouvoir identifier d'éventuels facteurs d'exposition à *B. canis* dans les élevages, de nombreuses questions dans différentes thématiques étaient posées. Nous nous sommes aperçus que certaines questions posaient problème à certains éleveurs qui avaient du mal à y répondre et que le questionnaire leur paraissait chronophage. Celui-ci a été réactualisé plusieurs fois, en simplifiant les questions et les réponses proposées aux éleveurs, afin que cela soit plus simple pour eux d'y répondre. Cependant, malgré ces modifications, il était difficile d'obtenir des réponses à certaines questions notamment concernant les effectifs d'animaux dans l'élevage, le nombre de cessions/ventes et d'échanges d'animaux au cours des 12 derniers mois, le nombre et le type de troubles de la reproduction observés au cours des 12 derniers mois, ou encore concernant les mesures de biosécurité et les protocoles de nettoyage/désinfection mis en place dans les élevages. De ce fait, il nous a manqué des réponses à certaines questions et de nombreuses questions étaient inexploitable d'un point de vue statistique puisqu'il y avait trop peu de réponses. En effet, notre analyse des questionnaires reposant majoritairement sur des calculs de fréquences, il ne nous paraissait pas pertinent de calculer celles-ci lorsque seulement deux ou trois élevages sur les quinze avaient répondu à une question.

B. Étude n°2 : Échantillons prélevés par le CERCA

a. Taux de séropositivité à la brucellose canine dans nos échantillons

Notre deuxième étude nous a permis de calculer un taux de séropositivité parmi les 390 chiennes suivies au CERCA. En effet, nous avons mis en évidence la présence de quatre

chiennes séropositives parmi les 390 échantillons de sérums, ce qui correspond à un taux de séropositivité de 1,0 %.

En raison de plusieurs limites que nous exposerons dans la partie suivante, notre échantillon n'était pas représentatif de la population des chiens d'élevages français. Nous n'avons donc pas pu inférer nos résultats à cette population et calculer la séroprévalence de l'infection à *B. canis* dans les élevages canins d'Île de France.

b. Comparaison avec les données épidémiologiques actuelles

Il n'existe pas encore d'étude de séroprévalence en France, à laquelle nous aurions pu confronter nos résultats. En revanche, l'étude de Buhmann *et al.* (2019) a réalisé le même type d'expérience que ce que nous avons réalisé dans notre étude, en recherchant la présence d'anticorps anti-*B. canis* parmi les échantillons de 2 764 chiens, provenant de 21 pays d'Europe, dont 415 échantillons provenant de chiens français. Leur étude a montré un taux de séropositivité de 5,4 % (IC95% 4,6 – 6,3) parmi l'ensemble des échantillons et un taux de séropositivité de 2,7 % (IC95% 1,1 – 4,2) parmi les échantillons provenant de chiens français. Dans notre étude, nous avons trouvé un taux de séropositivité de 1,0 %. Cette valeur est plus faible que ce qui avait été trouvé dans l'étude de Buhmann *et al.* (2019) mais reste assez proche cependant.

Différents facteurs pourraient expliquer ce taux de séropositivité plus faible. Tout d'abord, le nombre de chiens de notre étude (390 chiens) était plus faible que dans celle de Buhmann *et al.* (2019) (415 chiens). Comme exposé dans notre étude bibliographique, il existe une grande variété de tests de diagnostic indirect dont la sensibilité et la spécificité varient selon le test et il n'existe pas encore de test officiel qui serait utilisé par tous les laboratoires européens et qui permettrait une homogénéité des résultats. Il est possible que la sensibilité du test d'agglutination utilisé dans cette étude (Institut d'Hygiène et des Maladies Infectieuses des Animaux, JLU Gießen, Gießen, Allemagne) soit supérieure à celles des tests utilisés par l'Anses, permettant une détection supérieure des animaux séropositifs, et/ou que la spécificité de leur test soit supérieure à celle des tests de l'Anses, diminuant le nombre de potentiels faux-positifs. Les sensibilités et spécificités du test utilisé dans l'étude de Buhmann *et al.* (2019) n'étant pas indiquées, nous n'avons pas pu les comparer avec celles des tests utilisés par l'Anses. Dans leur étude, les échantillons provenaient d'animaux pour lesquels le dépistage de *B. canis* avait été spécifiquement demandé par un vétérinaire ou provenaient de populations à risque, ce qui n'était pas le cas dans notre étude puisque les animaux de la sérothèque ne présentaient pas forcément de troubles de la reproduction. Cela peut également expliquer que le taux de séroprévalence soit plus important dans leur étude que dans la nôtre. De plus, les échantillons de notre étude et de celle de Buhmann *et al.* (2019) n'étaient pas représentatifs de la population d'élevages canins français. Ainsi, il est possible que nous observions un taux de séroprévalence plus faible dans notre étude que dans celle de Buhmann *et al.* (2019) uniquement sous l'effet du hasard, car il y avait moins d'animaux séropositifs dans notre échantillon. Néanmoins, il convient de remarquer que le taux de séropositivité calculé dans notre étude (1,0 %) est proche du taux de séropositivité calculé dans celle de Buhmann *et al.* (2019), puisque la valeur la plus faible, en tenant compte d'un intervalle de confiance de 95 %, est de 1,1 %.

Cependant, suite à leur étude et depuis l'épidémie de covid-19, l'augmentation des importations de chiens provenant d'Europe de l'Est et l'essor du commerce d'animaux en ligne ont été à l'origine de nombreux cas et foyers en Europe de l'Ouest. Nous nous serions donc attendus à avoir un taux de séropositivité plus important que celui calculé dans l'étude de Buhmann *et al.* (2019).

Il est important de noter que ces comparaisons sont à prendre avec précaution puisque nos deux échantillons ne sont pas comparables, ni représentatifs de la population générale des chiens d'élevages français, et que nous n'avons pas calculé d'intervalle de confiance que nous aurions pu comparer à celui obtenu dans l'étude de Buhmann *et al.* (2019).

L'étude de Buhmann *et al.* (2019) a également calculé le taux de séropositivité des chiens européens ayant participé à l'étude, pays par pays (Figure 15). Nous pouvons ainsi observer que le taux de séropositivité que nous avons trouvé pour les chiens français est assez faible comparé à celui d'autres pays européens tels que la Suède (13,6 % ; (IC95% 0,0 – 28,0)), la Belgique (12,2 % ; (IC95% 3,1 – 21,4)) ou encore l'Italie (7,9 % ; (IC95% 4,3 – 11,5)). Cependant, le taux de séropositivité était nul dans certains pays tels que le Luxembourg, l'Espagne ou encore le Portugal. Ces résultats sont toutefois à prendre avec précaution, étant donné le peu de prélèvements analysés provenant de ces pays et le fait que les échantillons n'étaient pas représentatifs des populations de chiens d'élevages de ces mêmes pays.

Figure 15 : Résultats des tests de diagnostic indirect effectués sur des échantillons provenant de plusieurs pays européens (étude de Buhmann *et al.* (2019))

Country of origin	Submitted samples	Positive samples	Positive%	CI _{95%}
Sweden	22	3	13.60	0.00–28.00%
Belgium	49	6	12.20	3.10–21.40%
Austria	95	11	11.60	5.10–18.00%
Switzerland	85	7	8.20	2.40–14.10%
Italy	215	17	7.90	4.30–11.50%
Finland	203	14	6.90	3.40–10.40%
Germany	1065	58	5.40	4.10–6.80%
Denmark	117	6	5.10	1.10–9.10%
Hungary	140	6	4.30	0.90–7.60%
Norway	73	3	4.10	0.00–8.70%
Poland	164	6	3.70	0.80–6.50%
France	415	11	2.70	1.10–4.20%
Netherlands	98	2	2.00	0.00–4.80%
Czech Republic	8	0	0.00	–
Luxembourg	5	0	0.00	–
Malta	3	0	0.00	–
Latvia	3	0	0.00	–
Spain	2	0	0.00	–
Portugal	1	0	0.00	–
Slovenia	1	0	0.00	–
All samples	2,764	150	5.40	4.60–6.30%

c. Limites

- *Échantillonnage et méthodologie*

Bien que cet échantillon soit de taille plus importante que celui de notre première partie, de nombreuses limites sont à noter. Tout d'abord, la totalité des animaux testés étaient venus à l'EnvA pour suivi de chaleur incluant un dosage de progestérone, il s'agissait donc

exclusivement de femelles, et aucun mâle ne faisait partie de notre échantillon. La plupart de ces animaux étant suivis régulièrement par le CERCA, la majorité d'entre eux vivaient donc en Île de France (61,5 %) ou en régions limitrophes. De plus, les chiennes qui consultent au CERCA appartiennent le plus souvent à des petits éleveurs de chiens de race, qui sont très différents des grands élevages canins professionnels. Pour toutes ces raisons, notre échantillon n'était pas représentatif de la population générale de chiens d'élevages français et ne nous permettait pas de calculer une séroprévalence à l'échelle de cette population, mais seulement un taux de séropositivité au sein de notre échantillon.

Une autre limite de l'étude réside dans son caractère rétrospectif et anonyme, ce qui mène à une perte d'informations à plusieurs niveaux. Tout d'abord, l'anonymisation des chiennes de l'étude ne nous a pas permis d'aller plus loin lors de l'obtention de résultats positifs à la sérologie. En effet, il aurait théoriquement fallu retester les chiens avec un test sérologique quatre à six semaines plus tard afin de vérifier que l'animal était réellement séropositif et de pouvoir suivre le titre en anticorps, nous permettant de confirmer une séroconversion et d'éliminer les faux-positifs. Il aurait également fallu réaliser un test de diagnostic direct (culture bactériologique et PCR) sur plusieurs échantillons provenant des chiennes séropositives afin d'essayer d'isoler *B. canis* et ainsi de confirmer l'infection ou non de celles-ci. Nous n'avons également aucune information sur les élevages des chiennes incluses dans l'étude puisqu'il n'était pas possible de retrouver les éleveurs afin de leur faire remplir le questionnaire utilisé dans la première partie de notre étude. Nous n'avons pas d'informations non plus sur l'existence potentielle de signes cliniques ou de troubles de la reproduction chez ces chiennes.

Enfin, nos échantillons ont subi plusieurs congélations et décongélations. Ils ont tout d'abord été congelés pour être conservés dans la sérothèque de l'EnvA, puis décongelés (partiellement ou totalement) lorsque nous les avons anonymisés et amenés au LNR. Lorsque les analyses ne pouvaient pas être faites rapidement, ils ont de nouveau été congelés à l'Anses. Nous pouvons donc nous questionner sur l'impact que peut avoir cette conservation des prélèvements sur les résultats de notre étude, et s'il n'y a pas un risque de négativation des prélèvements.

- *Tests sérologiques effectués*

Contrairement aux échantillons de la première partie de notre étude, les échantillons des chiennes de la sérothèque n'étaient pas tous testés avec deux tests sérologiques. Toutes les chiennes étaient testées avec la technique de la MAT mais pas systématiquement avec la technique du LFIA. Seules sept chiennes sur les 390, dont trois des quatre chiennes positives à la MAT, ont été testées avec la technique du LFIA. Cependant, le fait de ne pas utiliser cette technique n'était pas un choix et était dû à l'impossibilité de l'Anses de se procurer ces tests au moment où nos échantillons ont été analysés.

C. Points de discussion communs aux deux études

a. Sensibilité et spécificité des tests sérologiques utilisés

Les deux tests sérologiques (MAT et LFIA) utilisés par l'Anses ont tous deux une sensibilité théorique de 100 %. Ils auraient donc une capacité parfaite à détecter les animaux séropositifs et l'on peut qualifier la sensibilité de ces tests comme excellente. Concernant la spécificité de ces tests, celle de la technique du LFIA est excellente également (99 %) et celle de la MAT est plutôt bonne (97 %) bien qu'inférieure à celle de la technique du LFIA.

Cependant, nous avons observé que nous détectons davantage d'animaux séropositifs avec la technique de la MAT qu'avec la technique du LFIA. En effet, dans notre première étude (chiens provenant d'élevages volontaires), sur les 34 chiens séropositifs testés à la fois par la technique de la MAT et par la technique du LFIA, 97,1 % des chiens étaient positifs à la MAT quand seulement 64,7 % des chiens étaient positifs à la technique du LFIA. De même, dans notre deuxième étude (chiennes suivies par le CERCA), quatre chiennes avaient été détectées séropositives à la MAT. Trois de ces quatre chiennes avaient été testées également par la technique du LFIA mais aucune n'était positive par cette technique.

Deux hypothèses sont plausibles : soit la sensibilité de la MAT est supérieure à celle de la technique du LFIA, qui serait alors inférieure aux 100 % attendus. Soit le nombre de séropositifs est artificiellement augmenté par la présence de faux-positifs avec la technique de la MAT, dont la spécificité (97 %) est inférieure à celle de la LFIA (99 %).

b. Risque de résultats faussement positifs

Nous devons rester prudents face aux taux de séropositivité calculés dans notre étude. En effet, comme exposé dans notre étude bibliographique, un des principaux inconvénients des tests de diagnostic indirect est la présence de réactions croisées avec d'autres bactéries présentant les mêmes déterminants antigéniques que *B. canis*. Ces réactions croisées peuvent être à l'origine de résultats faussement positifs, c'est-à-dire de chiens considérés à tort comme possédant les anticorps anti-*B. canis*.

De plus, comme évoqué précédemment, bien que la spécificité des deux tests utilisés par l'Anses peut être considérée comme plutôt bonne, celle-ci n'est pas parfaite. L'existence de faux-positifs est donc possible et le risque d'en détecter serait théoriquement plus important avec l'utilisation de la technique de la MAT (Sp = 97 %) qu'avec la technique du LFIA (Sp = 99 %).

c. Risque de résultats faussement négatifs

Un autre inconvénient des tests sérologiques est qu'ils peuvent parfois ne pas détecter un animal précocement infecté, dans les quatre à 12 semaines après l'infection. De plus, un taux d'anticorps trop faible peut entraîner l'obtention d'un test sérologique négatif. Ainsi, il est possible qu'il y ait des résultats faussement négatifs parmi les chiens de notre étude considérés comme séronégatifs et malheureusement, la plupart des chiens ou chiennes séropositifs n'ont pas pu être re-testés quatre à six semaines plus tard.

D. Perspectives et suite à donner

Notre étude a permis de montrer que la brucellose canine était très certainement présente au sein des élevages canins français. Une des principales limites était le manque d'élevages volontaires pour participer à l'étude, en raison de l'inquiétude qu'avaient les éleveurs sur les conséquences que pourrait avoir la découverte de chiens infectés par la brucellose canine dans leurs élevages. Leur inquiétude concernait essentiellement les pertes économiques potentielles en cas de mise en quarantaine de leur élevage mais aussi la peur que leurs animaux soient euthanasiés.

Ainsi, il serait pertinent de réaliser une étude analytique et à plus grande échelle, en incluant un plus grand nombre d'élevages, afin de rechercher la présence d'éventuels facteurs de risque associés à l'infection à *B. canis*. Si cette étude se fonde sur la

participation d'élevages canins volontaires comme nous l'avons fait, il serait essentiel que les éleveurs puissent bénéficier d'aides (matérielles et financières) et d'un accompagnement en cas de détection de chiens infectés à *B. canis* dans leur élevage, comme pour la plupart des maladies réglementées. Dans le cas contraire, la plupart des élevages risquent de nouveau de refuser de participer à l'étude. Pour pallier cette difficulté et étant donné le manque d'information sur la présence de la maladie en France, une campagne de dépistage obligatoire, menée par les institutions compétentes serait pertinente afin d'en savoir plus sur la séroprévalence et/ou la prévalence de la maladie en France et potentiellement d'endiguer la maladie avant qu'elle ne prenne des proportions plus conséquentes sur le territoire français.

Il est également ressorti de notre étude que la plupart des éleveurs français ne connaissaient pas la brucellose canine et qu'ils ne respectaient pas tous les règles de biosécurité recommandées en élevage pour éviter l'introduction et la propagation d'agents pathogènes tels que *Brucella canis*. Cela montre la nécessité d'informer les éleveurs sur l'existence de la brucellose canine en France et de les sensibiliser sur les bonnes pratiques à mettre en place pour empêcher son introduction et sa propagation au sein des élevages canins. Une campagne d'information sur cette zoonose serait pertinente, que ce soit au niveau des éleveurs canins mais aussi des vétérinaires, qui sont également concernés.

Enfin, nous avons vu qu'il était parfois difficile d'interpréter les résultats des différentes études épidémiologiques car les tests de diagnostic utilisés sont différents selon les laboratoires et donc possèdent des sensibilités et des spécificités très variables. Il nous apparaît donc nécessaire qu'il y ait une standardisation des protocoles de diagnostic et des tests utilisés pour la recherche de la brucellose canine entre les différents pays.

Conclusion

Notre étude a permis de montrer que la brucellose canine était très certainement présente au sein des élevages canins français. Dans une première étude, nous avons recherché l'infection à *B. canis* parmi les chiens de 15 élevages français, entre octobre 2022 et décembre 2023, au moyen de tests de diagnostic direct et indirect et nous avons trouvé un taux de séropositivité de 33,3 % (cinq élevages) et un cas d'infection a été confirmé par diagnostic direct dans un élevage. Dans une seconde étude, nous avons recherché l'infection à *B. canis* au sein de 390 sérums de chiennes suivies au service de reproduction de l'EnvA entre mai 2022 et août 2023 et nous avons trouvé un taux de séropositivité de 1,0 % (quatre chiennes). Un objectif secondaire de notre thèse était de décrire les facteurs d'exposition à *B. canis* dans les élevages canins au travers de l'analyse de questionnaires portant sur les pratiques d'élevages et les mesures de biosécurité mises en place au sein des 15 élevages de notre première partie. Il en est ressorti que la brucellose canine était une maladie inconnue d'une grande partie des éleveurs et que la plupart d'entre eux ne respectaient pas les recommandations minimales en termes de conduite d'élevage et de biosécurité, ce qui constituait un risque non négligeable d'introduction et de propagation de la brucellose canine dans leurs élevages.

En raison de limites liées à l'échantillonnage et à la méthodologie de notre étude, nous n'avons pas pu inférer nos résultats à la population de chiens d'élevages canins français. Il serait donc intéressant de conduire une étude de séroprévalence à plus grande échelle en France. Il serait également pertinent de mettre en place des mesures pour accompagner et aider, matériellement et financièrement, les éleveurs lors de la détection de cas de chiens infectés à *B. canis* au sein de leur élevage, comme pour la plupart des autres maladies règlementées. Cela les encouragerait à dépister la maladie chez leurs animaux, notamment lors de signes cliniques évocateurs, et permettrait ainsi de prévenir une propagation de la maladie au sein de tous les animaux de l'élevage, si les animaux infectés sont détectés précocement. La mise en place d'une campagne de dépistage obligatoire au sein des élevages canins français pourrait être intéressante en raison du manque de données sur la séroprévalence, la prévalence et même l'incidence de la brucellose canine en France, mais aussi de l'impact sanitaire et économique de cette maladie, qui est une zoonose aux conséquences mal connues chez l'Homme. Cela permettrait également de sensibiliser les éleveurs à cette maladie qui est encore trop peu connue d'une grande partie d'entre eux. Pour cela, il pourrait être judicieux de mettre en œuvre également une campagne d'information sur la brucellose canine, avec un rappel des bonnes pratiques d'élevages et des mesures de biosécurité, à destination des éleveurs mais aussi des vétérinaires, qui doivent être des acteurs majeurs dans la détection de cette maladie. Enfin, il semble primordial qu'il y ait une standardisation des protocoles de diagnostic et que les mêmes tests diagnostiques soient utilisés par les différents laboratoires de référence afin de pouvoir confronter les résultats des différentes études de séroprévalence, et également d'assurer une fiabilité optimale des tests de dépistage de la maladie au sein des élevages canins.

Liste des références bibliographiques

- ALTON, G.G., JONES, L.M., ANGUS, R.D., *et al.* (1988) Laboratory techniques in brucellosis. Paris, INRA.
- ANGRIMANI, D., LUCIO, C., DE AGOSTINI LOSANO, J., *et al.* (2016) The influence of canine brucellosis on morphofunctional features of epididymal spermatozoa: Case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* vol. 68, p. 1449-1452. [<https://doi.org/10.1590/1678-4162-9015>]
- ANSES (2022) La brucellose canine. In ANSES. [<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Fi-BrucelloseCanine.pdf>] (consulté le 13/04/2024).
- BELTRA, É. (2020) Biosécurité en collectivités des carnivores domestiques : développement d'une grille d'évaluation des élevages canins et félins. Thèse de médecine vétérinaire. Toulouse, École nationale vétérinaire de Toulouse.
- BOUNAADJA, L., ALBERT, D., CHÉNAIS, B., *et al.* (2009) Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of IS711, bcspp31 and per target genes. *Veterinary Microbiology* vol. 137, n° 1-2, p. 156-164. [<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.12.023>]
- BUHMANN, G., PAUL, F., HERBST, W., *et al.* (2019) Canine Brucellosis: Insights Into the Epidemiologic Situation in Europe. *Frontiers in Veterinary Science* vol. 6, p. 151. [<https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00151>]
- CARMICHAEL, L., E. (1999) Canine Brucellosis Caused by *Brucella canis*. In *Ivis*. [<https://www.ivis.org/library/recent-advances-canine-infectious-diseases/canine-brucellosis-caused-by-brucella-canis>] (consulté le 23/11/2023).
- COSFORD, K.L. (2018) *Brucella canis*: an update on research and clinical management. *Canadian Veterinary Journal* vol. 59, n° 1, p. 74-81.
- DE MASSIS, F., SACCHINI, F., AVERAIMO, D., *et al.* (2021) First Isolation of *Brucella canis* from a breeding kennel in Italy. *Veterinaria Italiana* vol. 57, p. 3. [<https://doi.org/10.12834/VetIt.2497.15848.1>]
- DE MASSIS, F., SACCHINI, F., PETRINI, A., *et al.* (2022) Canine brucellosis due to *Brucella canis*: description of the disease and control measures. *Veterinaria Italiana* vol. 58, n° 1, p. 5-23. [<https://doi.org/10.12834/VetIt.2561.16874.1>]
- DJOKIC, V., FREDDI, L., DE MASSIS, F., *et al.* (2023) The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know and what we need to learn. *Emerging Microbes & Infections* vol. 12, n° 2, p. 2249126. [<https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2249126>]
- FERREIRA VICENTE, A. (2024) communication orale avec A. Ferreira Vicente, membre du Laboratoire National de Référence pour la brucellose canine, ANSES, Maisons-Alfort, France.
- FONTBONNE, A. (2020a) La brucellose canine une maladie trop peu souvent recherchée en pratique. *Le Nouveau praticien vétérinaire* vol. 17, n° 75, p. 9-13.
- FONTBONNE, A. (2020b) L'identification récente d'un cas de brucellose canine en élevage canin impose de ne pas l'oublier. *La Dépêche vétérinaire* n° 1541, p. 18-19.
- FONTBONNE, A., GARIN-BASTUJI, B. (1996) An outbreak of *Brucella canis* infection in a French kennel. *3rd International symposium on Dogs, Cats an Exotic carnivores, Veldhoven, The Netherlands*.
- FONTBONNE, A., PONSART, C. (2023) La brucellose canine. *Pratiquevet* n° 213, p. 25-30.
- GIRAULT, G., PERROT, L., MICK, V., *et al.* (2022) High-Resolution Melting PCR as Rapid Genotyping Tool for *Brucella* Species. *Microorganisms* vol. 10, n° 2, p. 336. [<https://doi.org/10.3390/microorganisms10020336>]
- GRANDJEAN, D., PIERSON, P., RIVIÈRE, S., *et al.* (2014) Guide pratique de l'élevage canin, 5ème édition. Paris, Éditions Fontaine.
- GUARINO, C., FRANKLIN-GUILD, R., GOODRICH, E., *et al.* (2023) Antibody response over time correlated with treatment outcome in 30 dogs naturally infected with *Brucella canis* (2017–2022). *American Journal of Veterinary Research* vol. 84, n° 4. [<https://doi.org/10.2460/ajvr.23.01.0014>]
- HAUT CONSEIL DE LA SANTÉ PUBLIQUE (2022) Avis relatif à la conduite à tenir vis-à-vis de personnes exposées à des animaux contaminés par *Brucella canis*. In *hcsp.fr*. [https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=hcspa20220318_cotevividepeexdeanatdebrca.pdf] (consulté le 27/04/2024).
- HENSEL, M.E., NEGRON, M., ARENAS-GAMBOA, A.M. (2018) Brucellosis in Dogs and Public Health Risk. *Emerging Infectious Diseases* vol. 24, n° 8, p. 1401-1406. [<https://doi.org/10.3201/eid2408.171171>]
- HOLLETT, R.B. (2006) Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology* vol. 66, n° 3,

p. 575-587. [<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.011>]

HOLST, B.S., LÖFQVIST, K., ERNHOLM, L., *et al.* (2012) The first case of *Brucella canis* in Sweden: background, case report and recommendations from a northern European perspective. *Acta Veterinaria Scandinavica* vol. 54, n° 1, p. 18. [<https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-18>]

HUMAN ANIMAL INFECTION AND RISK SURVEILLANCE GROUP (2021) Risk review and statement on the risk *Brucella canis* presents to the UK human population. In *GOV.UK*. [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/6023f8948fa8f5146d53fb39/20210210_Brucella_canis_statement.pdf] (consulté le 02/06/2024).

KADEN, R., AGREN, J., FERRARI, S., *et al.* (2014) Whole-Genome Sequence of *Brucella canis* Strain SVA13, Isolated from an Infected Dog. *Genome Announcements* vol. 2, n° 4, p. e00700-14. [<https://doi.org/10.1128/genomeA.00700-14>]

KAUFFMAN, L.K., PETERSEN, C.A. (2019) Canine Brucellosis : Old Foe and Reemerging Scourge. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* vol. 49, n° 4, p. 763-779. [<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.013>]

KEID, L.B., SOARES, R.M., VASCONCELLOS, S.A., *et al.* (2007a) A polymerase chain reaction for detection of *Brucella canis* in vaginal swabs of naturally infected bitches. *Theriogenology* vol. 68, n° 9, p. 1260-1270. [<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.08.021>]

KEID, L.B., SOARES, R.M., VIEIRA, N.R., *et al.* (2007b) Diagnosis of canine brucellosis: comparison between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. *Veterinary Research Communications* vol. 31, n° 8, p. 951-965. [<https://doi.org/10.1007/s11259-006-0109-6>]

KOLWIJCK, E., LUTGENS, S.P.M., VISSER, V.X.N., *et al.* (2022) First Case of Human *Brucella canis* Infection in the Netherlands. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* vol. 75, n° 12, p. 2250-2252. [<https://doi.org/10.1093/cid/ciac425>]

MANCILLA, M. (2016) Smooth to Rough Dissociation in *Brucella*: The Missing Link to Virulence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 5, p. 98. [<https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00098>]

MORGAN, J., PINTOS, V., RYS, H., *et al.* (2017) *Brucella canis* in a dog in the UK. *Veterinary Record* vol. 180, n° 15, p. 384-385. [<https://doi.org/10.1136/vr.j1811>]

PONSART, C., FREDDI, L., FERREIRA-VICENTE, A., *et al.* (2020) *Brucella*, un genre bactérien en expansion : nouvelles espèces, nouveaux réservoirs. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* vol. 173, n° 1, p. 155-163. [<https://doi.org/10.3406/bavf.2020.70912>]

SANTOS, R.L., SOUZA, T.D., MOL, J.P.S., *et al.* (2021) Canine Brucellosis: An Update. *Frontiers in Veterinary Science* vol. 8, p. 594291. [<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.594291>]

VAN DIJK, M.A.M., ENGELSMA, M.Y., VISSER, V.X.N., *et al.* (2021) Transboundary Spread of *Brucella canis* through Import of Infected Dogs, the Netherlands, November 2016-December 2018. *Emerging Infectious Diseases* vol. 27, n° 7, p. 1783-1788. [<https://doi.org/10.3201/eid2707.201238>]

WANKE, M.M., DELPINO, M.V., BALDI, P.C. (2006) Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel (clinical trial). *Theriogenology* vol. 66, n° 6-7, p. 1573-1578. [<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.034>]

WHATMORE, A., PERRETT, L., FRIGGENS, M. (2017) Second UK isolation of *Brucella canis*. *Veterinary Record* vol. 180, n° 25, p. 617. [<https://doi.org/10.1136/vr.j3004>]

Annexe 1 : Questionnaire soumis aux éleveurs (dernière version)



Dans le cadre de leur étude sur les risques infectieux dans les élevages canins en France financée par la Société Centrale Canine et Agria, l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse et l'Anses vont recueillir quelques informations sur votre élevage.

Toutes les informations collectées seront anonymisées, les données ne seront utilisées que pour cette étude. Conformément à la réglementation, vous pouvez accéder aux données vous concernant, les rectifier, demander leur effacement ou exercer votre droit à la limitation du traitement de vos données.

L'élevage

Date Département où est situé l'élevage : Date de début des activités d'élevage :

Combien de chiens adultes (reproducteurs ou non) sont présents dans l'élevage ?

Exercez-vous d'autres activités sur le site que l'élevage ?

Oui Non

Si oui, précisez :

Pension Éducation/Dressage/Agility
 Toilettage Autre

Si 'Autre' précisez :



Participez-vous à des regroupements canins (expositions, concours de travail, ...) ?

Oui, en France
 Oui, à l'Étranger
 Non

Si vous avez participé à des regroupements canins au cours des 12 derniers mois à l'étranger, merci de préciser le ou les pays.

Pays 1

Pays 2

Pays 3

À combien de regroupements canins avez-vous participé par pays au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

France

Pays 1

Pays 2

Pays 3

Avez-vous introduit au cours des 12 derniers mois des chiens en provenance d'autres élevages ?

- Oui, en provenance de la France
 Oui, en provenance de l'étranger
 Non

Si vous avez introduit des chiens de l'étranger, merci de préciser le ou les pays de provenance :

Pays 1

Pays 2

Pays 3

Pays 4

Nombre de chiens introduits par pays au cours des 12 derniers mois :

Veillez-vous assurer de suivre l'ordre des pays tels que vous l'avez listé à la question précédente (ex. Pays 1 doit correspondre à Pays 1 listé précédemment)

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

France

Pays 1

Pays 2

Pays 3

Pays 4

Effectuez-vous des tests de dépistage de maladies dans le cadre d'achats de chiens à l'étranger ?

- Oui Non

Merci de préciser pour quelles maladies ?

Maladie1

Maladie2

Maladie3

Pour chaque maladie listée, merci de préciser la fréquence :

Veillez-vous assurer de suivre l'ordre des maladies tels que vous l'avez listé à la question précédente (ex. Maladie1 doit correspondre à Maladie1 listé précédemment)

	Systématiquement	Quelquefois	Ne me rappelle plus
Maladie1	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maladie2	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maladie3	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Effectuez-vous des prêts de chien reproducteur pour saillie ?

- Oui Non Ne me rappelle plus

Si oui, combien de prêts au cours des 12 derniers mois ?

Avez-vous procédé à des ventes/cessions de chiens au cours des 12 derniers mois ?

- Oui, à destination de la France
 Oui, à destination de l'étranger
 Non

Nombre de chiens vendus/cédés par pays au cours des 12 derniers mois :

Veillez-vous assurer de suivre l'ordre des pays tels que vous l'avez listé à la question précédente (ex. Pays_1 doit correspondre à Pays1 listé précédemment)

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Si ventes/cessions à destination de l'étranger, merci de préciser les pays :

Pays 1	<input type="text"/>
Pays 2	<input type="text"/>
Pays 3	<input type="text"/>
Pays 4	<input type="text"/>

France	<input type="text"/>
Pays_1	<input type="text"/>
Pays_2	<input type="text"/>
Pays_3	<input type="text"/>
Pays_4	<input type="text"/>

Merci de préciser le nombre de chiens par catégorie vendus/cédés à destination de la France au cours des 12 derniers mois ?

Veillez vous assurer que la somme des valeurs corresponde à la quantité renseignée à la question précédente
Si "ne se rappelle plus/ne sait pas", inscrire "999"

Chiots	<input type="text"/>
Chiennes reproductrices	<input type="text"/>
Étalons	<input type="text"/>
Autres chiens adultes	<input type="text"/>

Merci de préciser le nombre de chiens par catégorie vendus/cédés à destination de l'étranger au cours des 12 derniers mois ?

Veillez vous assurer que la somme des valeurs corresponde à la quantité totale à destination de l'étranger renseignée à la question précédente

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Chiots	<input type="text"/>
Chiennes reproductrices	<input type="text"/>
Étalons	<input type="text"/>
Autres chiens adultes	<input type="text"/>

Procédez-vous à des tests de dépistage sur les chiens de votre élevage ?

- Oui Non

Merci de préciser pour quelles maladies ?

Maladie1

Maladie2

Maladie3

Pour chaque maladie listée, merci de préciser la fréquence :

Veillez-vous assurer de suivre l'ordre des maladies tels que vous l'avez listé à la question précédente (ex. Maladie1 doit correspondre à Maladie1 listé précédemment)

	Régulièrement	En cas de signes évocateurs	Ne me rappelle plus
Maladie1	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maladie2	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Maladie3	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Y a-t-il un ou plusieurs élevages d'animaux de rente à proximité de votre établissement ?

- Non Chèvres
 Vaches Porcs
 Moutons Autre

Si "Autre" précisez

Possédez-vous cette zone dans une pièce dédiée ?

- Une maternité
 Une quarantaine
 Un local de saillie
 Des locaux dédiés aux adultes
 Aucune listée

Si oui, cette zone comporte-t-elle ?

Pour chaque zone indiquée, veuillez cochez parmi les items repris en colonne, ceux qu'elle comporte

	Caisses	Boxes	Niches	Aire de détente/p arc	Courette individuel	Cour commune
Une maternité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Une quarantaine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Un local de saillie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Des locaux adultes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Si vous avez des remarques à faire concernant vos installations, merci de les inclure ici :

Gestion de la reproduction

Combien de femelles reproductrices avez-vous au sein de l'élevage ?

Combien d'étalons avez-vous au sein de votre élevage ?

Combien de mises à la reproduction avez-vous réalisées au cours des 12 derniers mois ?

Cette question ne concerne que les femelles

Combien de mise-bas avez-vous eu au cours des 12 derniers mois ?

Pour les saillies, vous pratiquez :

- La saillie naturelle L'insémination en semence réfrigérée
 L'insémination en semence fraîche L'insémination en semence congelée

Pour cela, vous utilisez :

- Un ou des étalons internes à l'élevage Des saillies extérieures

Y a-t-il eu des pathologies de l'appareil reproducteur chez vos mâles au cours des 12 derniers mois ?

- Non
 Prostatite
 Orchite
 Autre

Si "Autre" préciser :

Si oui, combien de cas au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Prostatite

Orchite

Autre

Y a-t-il eu des problèmes d'infertilité dans votre élevage au cours des 12 derniers mois ?

Cette question concerne aussi bien les femelles que les mâles

- Non Oui, des femelles restées vides
 Oui, des portées de taille réduite Autre

Si 'Autre' précisez :

Y a-t-il eu des cas d'arrêt de gestation (résorption embryonnaire avant 40 jours de gestation) dans votre élevage au cours des 12 derniers mois ?

- Oui Non Je ne sais pas

Si oui, combien de cas d'arrêts de gestation au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Y a-t-il eu des cas d'avortements (au-delà de 40 jours de gestation) dans votre élevage au cours des 12 derniers mois ?

- Oui Non Je ne sais pas

Y a-t-il eu des cas de mortalité néonatale dans votre élevage au cours des 12 derniers mois ?

- Non
 Oui, mort-nés
 Oui, mortalité précoce (moins de 48h de vie)
 Oui, mortalité tardive (entre 2 et 21 jours de vie)

Certains de vos chiens ont-ils présenté des troubles locomoteurs au cours des 12 derniers mois ?

- Non
 Oui, boiterie
 Oui, faiblesse musculaire
 Oui, discospodylite
 Autre

Si 'Autre' précisez :

Si oui, combien de cas d'avortements au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Si oui, combien de cas au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Mort-nés

Mortalité précoce (< 48h)

Mortalité tardive (2 - 21 jour de vie)

Si oui, combien de cas au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Boiterie

Faiblesse musculaire

Discospodylite

Autre

Connaissez-vous la maladie de la brucellose canine ?

- Oui Non

Etes-vous au courant du potentiel zoonotique de la brucellose canine (transmission possible à l'Homme) ?

- Oui Non

Dépistez-vous la brucellose au sein de votre élevage ?

- Non Oui, par test sur tissus (organes, avortons, placenta, LCR...)
 Oui, par test sérologique (sang) Oui, par test sur liquides biologiques (sperme, urine...)

Savez-vous ce qu'il est recommandé de faire en cas de suspicion de brucellose canine dans un élevage ?

- Oui Non Ne me rappelle plus

Si oui, pouvez-vous donner une mesure que vous connaissez ?

Si vous avez des remarques à faire concernant la mise à la reproduction, merci de les inclure ici :

Biosécurité

Pratiquez-vous une quarantaine systématique à l'introduction d'un nouvel animal ?

- Non Oui, entre 7 et 14 jours
 Oui, moins de 7 jours Oui, plus de 14 jours

Respectez-vous le principe de la marche en avant au sein de votre élevage (nettoyage pratiqué de la zone la moins contaminée vers la zone la plus contaminée) ?

- Oui Non Je ne sais pas

Y a-t-il dans votre élevage un local d'accueil pour recevoir les personnes extérieures ?

- Oui Non

Y a-t-il une aire de détente pour les chiens extérieurs à l'élevage ?

- Oui Non

Avez-vous reçu des visites de personnes extérieures ou de chiens extérieurs à l'élevage sur le site au cours des 12 derniers mois ?

- Non Oui, de personnes extérieures Oui, de chiens extérieurs

Si oui, combien de visites au cours des 12 derniers mois ?

Si vous ne vous rappelez plus, merci d'inscrire "999"

Visites de personnes extérieures

Visites de chiens extérieurs

Possédez-vous du matériel de nettoyage dédié spécifiquement pour chaque zone ?

- Oui Non Je n'ai pas de zones dans mon élevage

Comment réalisez-vous le nettoyage et la désinfection de vos locaux ?

- J'utilise un produit 2 en 1 que j'applique en une fois Je nettoie, je rince puis je désinfecte en 3 étapes distinctes
 Je mélange le détergent et le désinfectant dans le même seau Je réalise uniquement un nettoyage

Utilisez-vous un produit pour la désinfection de vos locaux ?

- Oui Non

Merci d'indiquer dans le tableau ci-dessous le nom du/des produits utilisés/s :

Veillez indiquer dans le tableau ci-dessous leur fréquence d'utilisation :

Veillez-vous assurer de suivre l'ordre des produits tels que vous l'avez listé à la question précédente (ex. Produit 1 doit correspondre à Produit 1 listé précédemment)

		Une fois par jour	1 à 2 fois par semaine	1 à 2 fois par mois	Ne se rappelle plus
Produit 1	<input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Produit 2	<input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Produit 3	<input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>



D'où provient l'eau utilisée pour abreuver les chiens ?

- Réseau communal
- Puits
- Eau de pluie
- Autre

Si 'Autre' précisez :

Les chiens peuvent-ils entrer en contact avec les eaux usées ?

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

Que faites-vous des fœtus avortés et des chiots mort-nés ?

- Elimination par une entreprise spécialisée
- Compost
- Enfouissement
- Autre
- Déchets ménagers

Si 'Autre' précisez :



Le personnel utilise-t-il systématiquement des équipements de protection lorsqu'il manipule des produits de la mise-bas (annexes foetales, avortons...) ?

- Non
- Oui, blouse à usage unique
- Oui, gants
- Oui, blouse réutilisable
- Oui, surchaussures
- Oui, visière

Possédez-vous un lave-mains directement dans la zone de mise-bas ?

- Oui
- Non

Si vous avez des remarques à faire concernant la biosécurité, merci de les inclure ici :

Merci pour votre participation !

Annexe 2 : Brochure d'un des tests sérologiques utilisé par l'Anses (technique du LFIA)



BRUCELLA CANIS

*Test de dépistage de la Brucellose
en 20 minutes*

*Test immunochromatographique pour la detection semiquantitative de
l'anticorps de Brucella canis dans le sang de chien*

 Résultat en 20 minutes	 Stockage à temp. ambiante	 Sang total, plasma, sérum	 Péréptions longues	
---	--	---	---	---

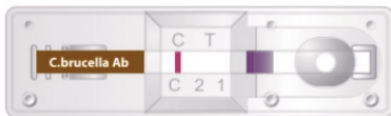
C.Brucella est le micro-organisme responsable de la brucellose canine. Tous les fluides corporels sont potentiellement infectieux, à la fois pour l'homme et pour le chien. Le signe clinique le plus fréquent de l'infection est la perte de l'embryon chez les femelles apparemment en bonne santé, dans le dernier quart de la gestation (45-59 jours). Quand une chienne avorte, la propagation du micro-organisme peut être très rapide. Malheureusement, il n'existe pas de vaccin pour la prévention de la brucellose. Si des cas de brucellose sont détectés dans un groupe d'animaux, un chenil par exemple, la totalité des chiens doit être testée. Plusieurs tests doivent être réalisés sur chaque animal, à un mois d'intervalle, pour s'assurer que tous les chiens positifs ont été identifiés.

Procédure de test simple

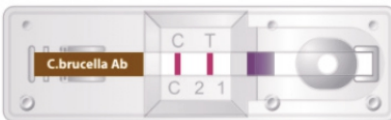


Interprétation des résultats

Fiabilité



NÉGATIF



POSITIF

Méthode de référence	Sensibilité	Spécificité
Hémoculture	93%	100%

Références

Kitvia Rapid Test Kit vs. 2-ME RSAT vs hémoculture sur les 742 chiens d'un chenil où C.Brucella a été détectée.

Nombre de résultats positifs		
2-ME RSAT	Kitvia	Hémoculture
254/742 (34.2%)	248/711 (34.9%)	118/483 (24.4%)

Kitvia Rapid Test Kit vs Rose Bengal

	Test Kitvia	Rose Bengal	Avantages
Principe	Immuno-chro.	Agglutination	Plus avancée
Echant.	Sang total, sérum, plasma	Sérum	Tous types d'échant.
Méthode de lecture	Positif: 2 lignes Négatif: 1 ligne	Difficile à l'œil nu	Simple
Temps de lecture	20 minutes	>1 jour pour l'acquisition du sérum	Rapide

Kitvia C. Brucella vs 2-ME RSAT vs hémoculture

	Hémoculture			2-ME RSAT			Kitvia sur sang total			Kitvia sur sérum		
	Patient n°			Patient n°			Patient n°			Patient n°		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
4 ^{ème} jour	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 ^{ère} sem	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 ^{ème} sem	+	-	-	-	-	-	+	-	++	+	-	+
3 ^{ème} sem	+	-	-	+++	-	-	+++	-	+	+	+	+
4 ^{ème} sem	+	-	+	+++	-	-	+++	-	++	+	+	+
5 ^{ème} sem	+	+	+	+++	-	+	+++	-	++	+	+	+++
6 ^{ème} sem	+	+	+	+++	+	+	+++	-	++	+	+	+++
7 ^{ème} sem	+	+	+	+++	+	+	+++	+	+++	+	+	+++
8 ^{ème} sem	+	+	-	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	++	++

Référence	Désignation	Condit.
B7RB2103	Test rapide Brucella canine	1x10

KITVIA SAS

16 chemin Perbost 31800 LABARTHE-INARD, France

KITVIA
www.kitvia.com

ESTIMATION DE LA SÉROPRÉVALENCE DE L'INFECTION À *BRUCELLA CANIS* DANS LES ÉLEVAGES CANINS ET DESCRIPTION DE FACTEURS D'EXPOSITION À L'AGENT PATHOGENE

AUTEUR : Léa Mathilde TROUVÉ

RÉSUMÉ :

La brucellose canine est une maladie infectieuse causée par le coccobacille *Brucella canis*, dont l'espèce canine est le réservoir naturel. Cette maladie est à l'origine de troubles de la reproduction mais aussi de signes cliniques non spécifiques chez le chien, c'est également une zoonose. Elle présente donc un impact économique et sanitaire non négligeable, en particulier dans les élevages canins. Cette maladie, jusqu'alors peu présente en Europe de l'Ouest, semble s'étendre depuis l'épidémie de covid-19 et l'augmentation des importations de chiens provenant d'Europe de l'Est, sans que l'on connaisse exactement sa situation épidémiologique en France. L'objectif de notre étude était donc d'essayer d'en savoir plus sur la situation épidémiologique de la brucellose canine dans les élevages canins français.

Après une étude bibliographique permettant de dresser un état des lieux des caractéristiques de la maladie ainsi que des données épidémiologiques actuelles, nous avons mené une première étude expérimentale dans laquelle nous avons recherché l'infection à *B. canis* parmi les chiens de 15 élevages canins français volontaires pour participer à cette étude, entre octobre 2022 et décembre 2023. Les facteurs d'exposition à *B. canis* étaient étudiés par l'intermédiaire d'un questionnaire que nous avons fait remplir aux éleveurs. Dans une seconde étude, nous avons recherché la présence de *B. canis* au sein de 390 échantillons de sérum de chiennes suivies au service de reproduction de l'EnvA, entre mai 2022 et août 2023.

Nous avons ainsi obtenu, parmi les 15 élevages volontaires, un taux de séropositivité de 33,3 % et un cas de contamination confirmé. Parmi les 390 échantillons de sérum de chiennes suivies au service de reproduction de l'EnvA, nous avons trouvé un taux de séropositivité de 1,0 %. Ces résultats nous ont permis de confirmer qu'il y avait très probablement une présence de la brucellose canine au sein des élevages canins français. De plus, après analyse des questionnaires, nous nous sommes aperçus que cette maladie était inconnue d'une grande partie des éleveurs et que la plupart d'entre eux ne respectaient pas les recommandations en termes de conduite d'élevage et de biosécurité, ce qui constituait un risque non négligeable d'introduction et de propagation de la brucellose canine dans leurs élevages.

Une étude prospective, avec un plus grand nombre d'élevages canins recrutés, serait intéressante pour compléter ce travail de thèse, de même que la mise en place d'une étude de séroprévalence à plus large échelle. Ce travail a également souligné l'importance de standardiser les protocoles de diagnostic de la brucellose canine entre les différents laboratoires de référence.

MOTS CLÉS :

BRUCELLOSE CANINE ; *BRUCELLA CANIS* ; ZOOSE ; CHIEN ; ÉLEVAGE CANIN ; ÉPIDÉMIOLOGIE ; FRANCE.

JURY :

Président : Pr Dominique GRANDJEAN

Directeur de thèse : Pr Alain FONTBONNE

Examineur : Dr Guillaume CROZET

ESTIMATION OF THE SEROPREVALENCE OF INFECTION DUE TO *BRUCELLA CANIS* IN DOG BREEDINGS AND DESCRIPTION OF EXPOSURE FACTORS TO THE PATHOGEN

AUTHOR: Léa Mathilde TROUVÉ

SUMMARY:

Canine brucellosis is an infectious disease caused by the coccobacillus *Brucella canis*, for which the canine species is the natural reservoir. This disease causes reproductive problems as well as non-specific clinical signs in dogs, and is also a zoonosis. It therefore has a significant economic and health impact, particularly on dog breedings. This disease, which until now has not been very prevalent in Western Europe, seems to have spread since the covid-19 epidemic and the increase in imports of dogs from Eastern Europe, although the exact epidemiological situation in France is not known. The aim of our study was therefore to find out more about the epidemiological situation of canine brucellosis in French dog breedings.

Following a literature review to provide an overview of the characteristics of the disease and current epidemiological data, we conducted an initial experimental study in which we looked for *B. canis* infection in dogs from 15 French dog breedings that volunteered to take part in the study, between October 2022 and December 2023. Exposure factors to *B. canis* were studied by means of a questionnaire that we had breeders complete. In a second study, we looked for the presence of *B. canis* in 390 serum samples from bitches monitored at the EnvA breeding department between May 2022 and August 2023.

Among the 15 volunteer breedings, we obtained a seropositivity rate of 33.3% and one confirmed case of contamination. Among the 390 serum samples from bitches monitored in the EnvA breeding department, we found a seropositivity rate of 1.0%. These results enabled us to confirm that canine brucellosis was very likely to be present on French dog breedings. Furthermore, after analysing the questionnaires, we realised that this disease was unknown to a large proportion of the breeders and that most of them did not comply with the recommendations in terms of husbandry and biosecurity, which constituted a significant risk of introducing and spreading canine brucellosis on their breedings.

A prospective study, with a larger number of canine breedings recruited, would be an interesting complement to this thesis work, as would the implementation of a seroprevalence study on a larger scale. This work has also highlighted the importance of standardising diagnostic protocols for canine brucellosis between the various reference laboratories.

KEYWORDS:

CANINE BRUCELLOSIS; *BRUCELLA CANIS*; ZONOSIS; DOG; DOG BREEDING; EPIDEMIOLOGY; FRANCE.

JURY:

Chairperson: Pr Dominique GRANDJEAN

Thesis Director: Pr Alain FONTBONNE

Reviewer: Dr Guillaume CROZET