



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Echahid Larbi Tébessi –Tébessa.
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie appliquée

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

**Étude de l'exactitude de test de rose Bengale
utilisé dans le diagnostic de la brucellose
animale dans la région de Tébessa.**

Présenté par:

M^{elle} NOUIRI Ibtihel

M^{elle} DEFAFLIA Nadia

Devant le jury :

M. GASMI Salim

MCA U. Larbi TBESSI -Tébessa Président

Mme. DJERMANE Nadia

MCB U. Larbi TBESSI -Tébessa Examinatrice

M. BENLAKEHAL. Amar

MAA U. Larbi TBESSI -Tébessa Promoteur

Année universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Remerciement

Le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience et la volonté d'accomplir ce modeste travail nous tenons à saisir cette occasion et adresser nos profonds.

*Le premier personne que nous tenons à remercier est notre encadrant **M.BENLAKEHAL Amar**, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, nous le remercions pour ses précieux, son soutien, et ses encouragements au long de ce mémoire.*

Aux membres du jury :

Président : GASMI Salim

Examinatrice : DJERMANE Nadia

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

Enfin, Nous remercions à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire surtout les membres du laboratoire de Bachir el mantouri et Dr, Guessoum A responsable de laboratoire Elite.

NOUIRI Ibtihel

DEFAFLIA Nadia

Dédicace

À ma chère mère et mon modèle dans toutes mes démarches et mon idéal le plus élevé: aujourd'hui, je réalise notre rêve, que nous avons toujours attendu avec joie et anticipation, malgré la tristesse de votre absence à ce stade et aujourd'hui, mais je sais qu'avec mon succès, j'ai rempli la promesse et j'espère que je vous ai rendu fier de votre fille, qui travaille à vous ressembler pour préserver votre image aux yeux des gens.

À mon cher père: tu m'as donné mon dos, qui ne penche pas et ne plie pas, et est une source de ma sécurité et de mes souhaits.

À mes sœurs Aridj et Oumaima : vous étiez ma force et ma source de joie et de fierté et ma motivation à travailler et à continuer pendant ce voyage.

À mon cher et unique frère et au coin de mon œil Isslem : tu étais mon lien, mon soutien de famille et mon protecteur, malgré ton jeune âge et la personne au cœur le plus tendre du monde.

À ma grand-mère Rebeh : Dieu t'a soutenue pour moi et t'a sauvée de tout mal.

Aux filles de ma tante Chaima et Raja : tu étais ma sœur aînée qui m'a toujours encouragée et adoucie.

À ma tante Hiba : Je remercie Dieu qui m'a présenté une femme comme toi, une femme dont la tendresse continue de donner, une femme qui a porté un grand poids de moi et m'a soulagée et m'a contenue et m'a fait me sentir complète et a fait chaque pas à ce stade rempli de joie.

À Oncle Med el amine : tu étais pour nous la solution à nos problèmes et obstacles, la motivation constante et la première destination en cas de besoin.

À ma tante Amel: J'étais ma compagne pendant mes années d'école et la personne qui est fière de moi parmi ses amis.

Pour ma tante Linda et ses fils Taqi et Mohammed ;, vous étiez ma famille, qui a toujours mis un sourire sur mon visage.

À ma sœur et pas seulement à mon amie Nadia: la personne la plus chère que j'ai connue au cours de ces années, dans laquelle tu étais la sœur avant l'amie et la joie de ma journée et de mon traitement préférés.

À mes amies Radia et Lilia et Manou: les seules qui nous insufflaient de l'optimisme et de l'espoir.

À Nana et Ouïam : vous étiez notre modèle, notre aide et notre source inépuisable d'informations.

Dédicace

*À mes chères grands-pères **Dhif-allah et Med salah** : Votre sagesse, votre expérience et votre amour m'ont profondément marquée. Vous avez été des modèles de valeurs, d'intégrité et de générosité. Vos récits captivants, vos conseils avisés et votre présence bienveillante ont enrichi ma vie de façon inestimable. Je suis honorée de vous avoir comme grands-pères.*

*À mes chères grand-mères **Naoua et Nadia** : Vous m'avez transmis des valeurs essentielles, des histoires précieuses et une force intérieure qui m'ont guidée tout au long de mon parcours. Votre soutien indéfectible, vos mots d'encouragement et vos prières ont été une source d'inspiration inestimable pour moi.*

*À mes chères parents **Zouhir et Hiba** : Vous êtes mes piliers, mes guides et ma source d'inspiration. Votre amour inconditionnel, votre soutien constant et vos sacrifices désintéressés ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je vous suis infiniment reconnaissante pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Cette réussite est le fruit de votre dévouement et de vos encouragements constants. Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir poussée à donner le meilleur de moi-même et de m'avoir montré la voie de la réussite.*

*À mes oncles **Med El amine, Nabil et Mourad** : Vous avez été des figures inspirantes et des mentors précieux dans ma vie. Votre soutien constant, votre encouragement et votre engagement à mes côtés ont été d'une valeur incommensurable. Je vous remercie du fond du cœur pour votre présence bienveillante.*

*Et aussi **Hmia et Adlen** : je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude envers vous. Vous êtes des oncles exceptionnels, des hommes inspirants qui ont joué un rôle important dans ma vie et mon parcours.*

*À mes chères tantes **Mariam et Hanifa et Malika** : Des femmes extraordinaires. Vous êtes des modèles de force, de grâce et de résilience. Vous m'avez encouragée à poursuivre mes rêves, à croire en moi-même et à viser l'excellence.*

*À mes frères **Dibou, Amjed** et mes sœurs **Naoua, Nihel, Sirine et Wala** Votre présence à mes côtés a été un véritable cadeau.*

*À ma sœur et ma binôme exceptionnel **Ibtihel**, merci d'avoir partagé cette aventure avec moi. Notre collaboration a été un véritable succès grâce à toi.*

*À mes amies, **Amira, Anfel, Naziha, Zaineb, Lilia, Nina, Mano**, Votre amitié a été un véritable trésor.*

DEF AFLIA Nadia

ملخص

داء البروسيلات هو مرض حيواني المنشأ رئيسي شائع في العديد من الأنواع الحيوانية والبشرية. له تأثير صحي واقتصادي كبير. ونظرا لانخفاض خصوصية التشخيص السريري ، فإن التشخيص المختبري ضروري ، ولكن لا يوجد أي من الاختبارات المخبرية بمعايير دقة مثالية. وتحقيقا لهذه الغاية، أجريت دراسة عرضية في الفترة الممتدة ما بين جانفي 2023 وأفريل 2023، في ولاية تبسة. من أجل دراسة دقة بروتوكول اختبار "Rose Bengal" TRB المعدل، وتحليل الارتباط الإحصائي المحتمل بين بعض عوامل الخطر وإيجابية تحليل الدم الفردية. قمنا بإجراء تحليل ل 215 مصلا من أمصال المجترات عن طريق استخدام اختبار روز البنغال (البروتوكول القياسي "TRBs" والمعدل "TRBm") واختبار رايت للتراص المصلي "SAW".

وكانت معدلات الانتشار المصلي الظاهرة كما يلي: (IC 95% : 5.42 – 13.18) ل TRBs ، و(IC 95% : 2.17 – 8.07) ل TRBm و SAW). ومع ذلك ، أعطى نموذج تحليل الطبقة الكامنة البايزي معدل انتشار حقيقي ل (IC 95% : 4.9 – 12.7) 8.3% أظهر هذا النموذج أن TRB هو الأكثر حساسية (Se = 98.4%) واختبارات TRBm و SAW هي الاختبارات الأكثر خصوصية (Sp = 99.9%). في ضوء هذه النتائج ، ينبغي إجراء مزيد من الدراسات لتقييم أداء بروتوكول TRB المعدل بشكل صحيح وأيضا الاختبارات المصلية الأخرى.

الكلمات المفتاحية: البروسيلات ، المجترات ، روز البنغال ، تراص رايت المصلي ، تبسة.

Résumé

La brucellose est une zoonose majeure, commune à de nombreuses espèces animales et à l'Homme. Elle a un impact significatif sur le plan sanitaire et économique. Au vu de la faible spécificité du diagnostic clinique, le diagnostic de laboratoire s'impose, mais aucun de tests de laboratoire n'est parfait. À cet effet, une étude transversale a été menée pendant une période étalant entre Janvier 2023 et Avril 2023, dans la wilaya de Tébessa ; pour étudier l'exactitude d'un protocole modifié de test de Rose Bengale "TRB", et pour analyser une éventuelle association statistique entre certains facteurs de risque et la séropositivité individuelle. En analysant 215 sérums des ruminants via l'utilisation de test de Rose Bengale (protocole standard "TRBs" et modifié "TRBm") et le test séro-agglutination de Wright "SAW".

Les taux de séroprévalence apparentes ont été : **9.30%** (IC 95% : 5.42 – 13.18) pour le TRBs, et **5.12%** (IC 95% : 2.17 – 8.07) pour les deux autres (TRBm et SAW). Cependant, Le modèle d'analyse des classes latentes par approche bayésienne a donné un taux de prévalence réelle de **8.3%** (IC 95% : 4.9 – 12.7) ; ce modèle a montré que le TRB est le plus sensible (Se = **98.4%**), et les tests TRBm et SAW sont les tests les plus spécifiques (Sp = **99.9%**). À la lumière de ces résultats, d'autres études devraient être menées pour évaluer correctement les performances de protocole modifié du TRB et ainsi d'autres tests sérologiques.

Mots clés : *Brucella*, Ruminants, Rose Bengale, Séro-agglutination de Wright, Tébessa.

Abstract

Brucellosis is a major zoonosis, common to many animal species and humans. It has a significant impact on health and the economy. Given the low specificity of clinical diagnosis, laboratory diagnosis is essential, but no laboratory test is perfect. To this end, a cross-sectional study was carried out between January 2023 and April 2023, in the Wilaya of Tébessa ; to study the accuracy of a modified Rose Bengal test protocol "TRB", and to analyze a possible statistical association between some risk factors and individual seropositivity. By analyzing 215 ruminant sera using the Rose Bengal test (standard "TRBs" and modified "TRBm" protocols) and Wright serum agglutination test "SAW".

Apparent seroprevalence rates were: 9.30% (95% CI: 5.42 - 13.18) for TRBs, and 5.12% (95% CI: 2.17 - 8.07) for the other two (TRBm and SAW). However, the Bayesian latent class analysis model gave a true prevalence rate of 8.3% (95% CI: 4.9 - 12.7); this model showed that TRBs is the most sensitive (Se = 98.4%), and TRBm and SAW are the most specific tests (Sp = 99.9%). In the light of these results, further studies should be carried out to properly evaluate the performance of the modified TRB protocol and other serological tests.

Key words: *Brucella*, Ruminants, Rose Bengal, Wright sero-agglutination, Tébessa.



LISTE
DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1 : Classification de brucella (Corbel <i>et al.</i> , 2010).....	3
Tableau2 : Espèces de <i>Brucella</i> et pathogénicité pour l'homme (Maurin, 2005a)	4
Tableau3 : Sensibilité de <i>brucella</i> aux agent chimiques et physiques (Yahiaoui <i>et al.</i> , 2015). 9	
Tableau 4 : Espèces et biovars, caractéristiques épidémiologiques, hôte animal préférentiel, pouvoir pathogène chez l’homme (selon M. Maurin) (Maurin M <i>et al</i> , 2005).....	13
Tableau 5: Comparaison des différentes méthodes de diagnostic de la Brucellose (Molto, 2010).....	27
Tableau 6: Distribution des cas selon le facteur d’avortement	47
Tableau 7: Distribution des cas selon le facteur de sexe	48
Tableau 8: Distribution des cas selon les espèces	49
Tableau 9: Combinaison des résultats croisés du T-RB nor, T-Wright et T-RB nov	46
Tableau 10: Paramètres calculés par le modèle d'analyse de classes latentes par approches bayésiennes.....	47

A decorative rectangular frame with rounded corners, featuring ornate, symmetrical scrollwork designs at each of the four corners. The frame is light gray with a white border.

LISTE
DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : David Bruce (Torr, 2019).....	2
Figure2 : Placenta Ovin.....	5
Figure 3 : Coccobacilles à Gram négatif.....	6
Figure 4 : Colonies S/R colorées selon la technique colorimétrique de White et Wilson.....	7
Figure 5 : Carte de la prévalence de la brucellose bovine établie sur la base des données (Boukary <i>et al.</i> , 2013)	11
Figure 6 : la répartition géographique de la brucellose en Algérie (Yahiatene,2020).....	12
Figure 7 : LAMP : Lysosome-Associated Membrane Proteins (Matthieu.,2016)	17
Figure 8 : Hygroma important au niveau de L'articulation de carpe gauche d'un bovin.....	20
Figure 9 : Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre brucella (SKENDROS <i>et al.</i> , 2013).....	21
Figure 10 : Culture de bactérie <i>Brucella</i> (Chakroun <i>et al.</i> , 2007)	23
Figure 11 : Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa.	33
Figure 12 : Prélèvements sanguins d'animaux	34
Figure 13 : Réactif de Rose Bengale (Photo personnelle).	36
Figure 14 : Contrôle positif et négatif de Rose Bengale (Photo personnel).....	37
Figure 15 : Etapes de la méthode qualitatif (Photo personnelle).	38
Figure 16 : Résultat après 4min d'agitation.	39
Figure 17 : Les résultats attendus pour les trois tests utilisés.....	42
Figure 18 : Taux de séroprévalence apparente	45
Figure 19 : Distribution des cas en fonction de facteur avortement précédent	48
Figure 20 : Distribution des cas selon le sexe	49
Figure 21 : Distribution des cas selon les espèces	50



LISTE
DES ABRIVIATIONS

LISTE DES ABRIVIATIONS

B : *Brucella*.

spp : Plusieurs espèces

OMS : Organisation mondiale de la santé

A : Abortus

M : Melitensis

R : rugueuse

Tb : tuberculosis

ARN : Acide Ribonucléique

Ph : Potentiel hydrogène (unité de mesure d'acidité, sur une échelle allant de 1 à 14

% : pourcentage (pour cent)

S-LPS: S forme lipopolysaccharide

DC : les cellules dendritiques

LAMP: Lysosome-Associated Membrane Proteins

CPA : macrophages et cellules dendritiques

Th1 : lymphocytes T helpers I

IFNI : Interféron gamma

NK : les cellules natural killer

EAT : Épreuve à l'antigène tamponné

RB : Rose Bengale

SAW: Séroagglutination lente de Wight

L'I.N.R.A : L'Institut national de la recherche agronomique

L'IDR : L'intradermoréaction à la tuberculine



SOMMAIRE

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

ملخص

Résumé

Abstract

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRIVIATIONS

SOMMAIRE

INTRODUCTION

Rappel bibliographique : Les infections par *Brucella* spp.

1. Définition.....	1
2. Etiologie.....	1
2.1. Historique de la découverte de la brucellose.....	1
2.2. Taxonomie.....	2
2.3. Phylogénie du Bactérie.....	4
2.4. Isolement et identification.....	5
2.4.1. Caractères morphologique.....	5
2.4.2. Caractères cultureux.....	6
2.4.3. Caractères biochimiques.....	7
2.4.4. Caractères génétiques.....	7
2.4.5. Caractère génomiques.....	8
2.5. Etude biologique des Brucella.....	8
2.5.1. Résistance et sensibilité dans l'environnement.....	8
2.5.2. Résistance et sensibilité aux antiseptiques.....	8
2.5.3. Résistance et sensibilité aux antibiotiques.....	9
2.6. Facteurs de virulence.....	9
2.6.1. Paroi bactérienne.....	9
2.6.2. Inhibition la réponse immunitaire.....	9
3. Epidémiologie.....	10
3.1. Situation actuelle de la brucellose.....	10

3.1.1. Dans le monde	10
3.1.2. En Algérie.....	11
3.2. Espèces réceptives.....	12
3.3. Mode de contamination	13
3.3.1. Brucellose bovine	13
3.3.2. La brucellose chez les petits ruminants	13
3.4. Mode de transmission.....	14
3.4.1. Transmission verticale.....	14
3.4.2. Transmission horizontale.....	14
3.5. Voies de pénétration	14
3.6. Facteurs de risque.....	14
3.7. Impact Socio-économique	15
3.7.1. Impacts sociaux	15
3.7.2. Impacts économiques	15
4. Pathogénie.....	16
4.1. Étapes d'infection brucellique.....	16
4.2. Symptômes	17
4.2.1. Atteintes génitales.....	17
4.2.1.1. Chez la femelle.....	17
4.2.1.2. Chez le male.....	19
4.2.2. Atteintes extra-génitales	19
4.2.2.1. Arthrites.....	19
4.2.2.2. Hygromas	19
4.2.2.3. Autres localisations.....	19
4.3. Lésions	20
5. Caractéristiques de la réponse immunitaire vis-à-vis de <i>Brucella</i>	20
6. DIAGNOSTIC	22
6.1. Diagnostic direct.....	22
6.1.1 Culture du germe.....	22
6.1.2 PCR	23
6.2 Diagnostic indirect	23
6.2.1. Séro-agglutination lente de Wright (S.A.W)	24
6.2.2. Épreuve à l'antigène tamponné (E.A.T) ou card-test ou encore réaction à l'antigène au rose Bengale.....	24
6.2.3. Réaction de fixation du complément (R.F.C)	25
6.2.4. Marqueurs de l'inflammation.....	25
6.2.5. Méthode ELISA	25
6.2.6. Réaction d'immunofluorescence (IF).....	26

6.2.7. Réaction d'hypersensibilité retardée ou Intradermoréaction à la mélitine	26
7. Prophylaxie	27
7.1. Mesure de lutte contre la brucellose animale :	28
7.1.1. Prophylaxie sanitaire	28
7.1.2. Prophylaxie médicale	29
7.2. Mesures sanitaires	29
7.3. Vaccination	30

Partie expérimentale

1. Matériel et Méthodes	32
1.1. Présentation générale de la région d'étude	32
1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins	34
1.2.1. Conception d'étude et animaux	34
1.3. Tests sérologiques.....	34
1.3.1. Réactifs	35
1.3.1.1. Test de Rose Bengale.....	35
1.3.1.1.1. Description et principe	35
1.3.1.2. Test de séro-agglutination de Wright.....	36
1.3.1.3. Autres matériels nécessaires	36
1.3.2. Mode opératoire	37
1.3.2.1. Protocole opératoire de TRBs.....	37
1.3.2.2. Protocole opératoire TRBm.....	38
1.3.2.3. Protocole opératoire standard du test SAW	39
1.3.2.3.1. Méthode qualitative	39
1.3.2.3.2. Méthode semi-quantitative	39
1.3.3. Lecture et interprétation	40
1.4. Organisation, présentation graphique et analyse des données.....	40
1.4.1. Calcul de taux de prévalence apparente et l'intervalle de confiance.....	41
1.4.2. Analyse statistique pour les facteurs de risque	41
1.4.3. Estimation de prévalence réelle, paramètres intrinsèques et paramètres extrinsèques de test utilisé	41
1.4.4. Calcul des valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN).....	44
1.4.5. Calcul des valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN).....	44
2. Résultats	45
2.1. Taux de séroprévalence apparente.....	45
2.2. Résultats de modèle d'analyse des classe latentes.....	45
2.3. Distribution des résultats selon les facteurs de risque putatifs	47
2.3.1. Distribution des résultats en fonction le facteur d'avortement.....	47

SOMMAIRE

2.3.1.1. Distribution des résultats selon le facteur de sexe.....	48
2.3.1.2. Distribution des résultats selon les espèces.....	49
2.4. Analyses statistiques.....	50
3. Discussion.....	51
3.1. Taux de séroprévalence et distribution des cas positifs.....	51
3.2. Evaluation des paramètres de tests utilisé.....	52
3.3. Facteurs de risque.....	54
3.4. Les avantages et les Inconvénients potentiels de l'utilisation des tests d'étude.....	55
Conclusion.....	57
Références bibliographiques.....	59

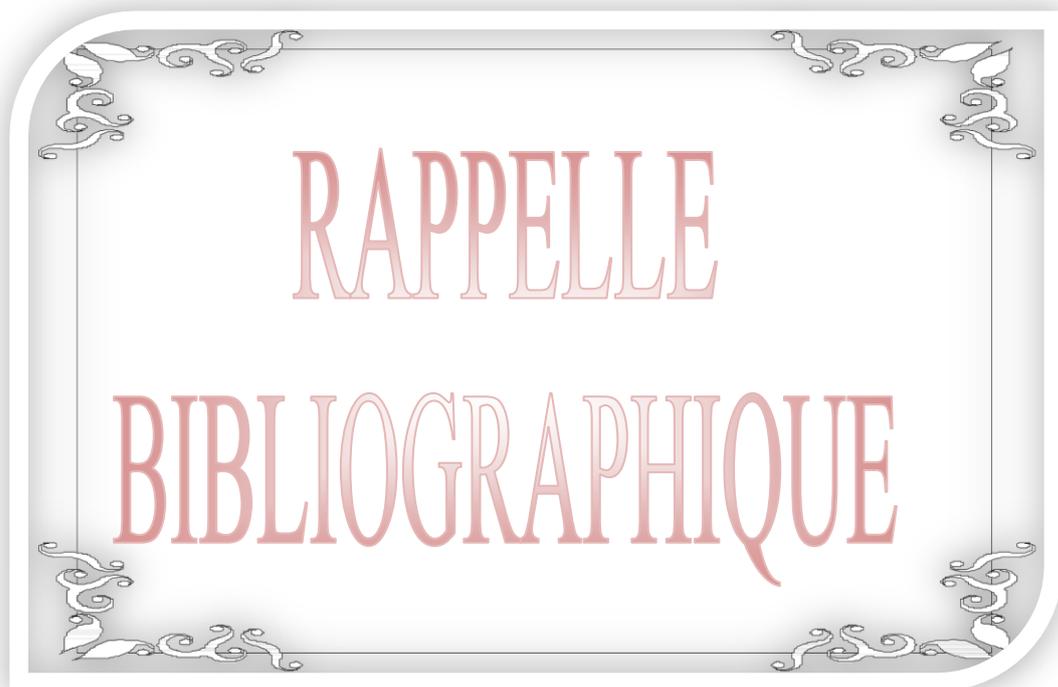


INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les maladies zoonotiques sont des maladies infectieuses qui peuvent être transmises entre les animaux et l'homme (OMS., 2020c). Elles représentent une préoccupation majeure pour la santé publique, la santé animale et l'environnement. Parmi ces maladies, la brucellose est l'une des plus importantes (ONUAA, 2023). C'est une maladie bactérienne causée par les bactéries du genre *Brucella*. Elle peut affecter une grande variété d'animaux tels que les bovins, les ovins et les caprins. (ELSAN, s. d.). Les animaux domestiques, sont des réservoirs importants de *Brucella*. Les humains peuvent être infectés en consommant des produits d'origine animale tels que le lait non pasteurisé, le fromage et la viande crue, ou en étant en contact avec des animaux infectés. La détection précoce de cette maladie est essentielle pour prendre des mesures de contrôle et prévenir sa propagation. Deux tests couramment utilisés pour détecter la brucellose sont le test Rose Bengale et le test Wright (OMS, 2020a). Le test Rose Bengale est un test sérologique rapide et économique. Il se base sur l'utilisation d'un colorant qui réagit avec les anticorps présents dans le sérum des animaux infectés par *Brucella* (BiO-RAD, 2014). Cependant, le test Rose Bengale présente certaines limites. Il peut donner des résultats faussement positifs en présence d'autres infections bactériennes. Il peut également donner des résultats faussement négatifs lors des premiers stades de l'infection ou chez les animaux présentant une réponse immunitaire affaiblie (ERLB, 2021). Le test Wright est un test séroagglutination utilisant des antigènes de *Brucella*. Il permet de détecter les anticorps spécifiques dirigés contre *Brucella*. Les résultats sont basés sur la formation d'agglutinats visibles à l'œil nu. Il est plus spécifique que le test Rose Bengale, ce qui signifie qu'il est moins susceptible de donner des résultats faussement positifs en présence d'autres infections. Cependant, il peut également donner des résultats faussement négatifs au stade précoce de l'infection ou chez les animaux immunodéprimés (BIO-RAD SAW., 2014). En Algérie la brucellose s'inscrit dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire (Kardjadj., 2020) ; certaines régions de notre pays ont un état de forte endémicité notamment les hauts plateaux et les zones pré-steppeiques. Plusieurs études ont été menées pour évaluer la séroprévalence des *Brucella spp.* ou bien pour identifier génétiquement la bactérie (Aggad., 2003 ; Gabli *et al.*, 2015 ; Kardjadj., 2020).

Le but de cette étude visant à proposer et évaluer un protocole modifié de TRB, visant pour améliorer de la spécificité de ce test (minimiser le nombre des réactions sérologiques faussement positifs) ; ainsi pour étudier une éventuelle association statistique entre la séropositivité individuelle et certains facteurs de risque putatifs.



Les infections par *Brucella* spp.

1. Définition

La brucellose est une maladie causée par des bactéries du genre *Brucella*. Ce terme désigne également : la fièvre de Malte, la maladie de Bang, la fièvre méditerranéenne, la fièvre de Chypre et la fièvre de Crimée. Entre autres, il était à l'origine utilisé pour décrire la brucellose chez l'homme associée à un secteur ou à une maladie donnée chez les animaux (**Maurin et al., 2005**). La brucellose est une maladie contagieuse des animaux d'élevage ayant un impact économique important. La maladie est due à différentes bactéries appartenant au genre *Brucella* qui infectent généralement une espèce animale spécifique. Toutefois, la plupart des espèces de *Brucella* sont également capables d'infecter d'autres espèces animales. La maladie touche les bovins, les porcs, les ovins et les caprins, les équines, les camélidés et les chiens. Elle peut également atteindre d'autres ruminants, certains mammifères marins et l'homme. Chez les animaux, la maladie se manifeste par des avortements ou par un échec de la reproduction. Généralement, les animaux guérissent et réussiront à donner naissance à une descendance vivante après un premier avortement, mais ils peuvent continuer à excréter la bactérie (**OIE., 2023**).

2. Etiologie

2.1. Historique de la découverte de la brucellose

La brucellose a été caractérisée comme entité nosologique, au XIXe siècle, par des médecins militaires anglaises installées sur l'île de Malte (**Maurin, 2005a**). Ainsi, la première description clinique fiable de la brucellose est attribuée à Allen Jeffery Marston en 1859 (**Debeaumont et al., 2005**). En 1887, David Bruce a identifié la bactérie responsable de la maladie chez les soldats britanniques qui étaient stationnés à Malte et qui étaient affectés par des fièvres récurrentes, puis, il a isolé la bactérie pathogène de la rate d'un soldat. La bactérie s'appelait *Micrococcus melitensis* (**Mollaret., 2023**). En 1897 Almroth Wright décrit le test diagnostique par séroagglutination en tube (**E Weight., 1897**). Le rôle de la chèvre comme réservoir de l'agent de la brucellose sur l'île de Malte est décrit en 1905 par Thémistocle Zamit, bactériologiste maltais (**Wyatt., 2005**). En 1905, Zamit a voulu étudier la maladie dans des modèles d'animaux caprins et a découvert qu'ils étaient tous positifs à la lumière, la brucellose était donc zoonotique (**Bouhraoua et al., 2021**).



Figure 1 : David Bruce (Torr, 2019)

En Algérie, la maladie a été signalée pour la première fois en 1895, par Cochez, chez les chèvres de la région d'Oran (Ardin., 1926) . Puis, en 1899 par Legrain dans la vallée de la Soummam - Au début du 20ème siècle, elle fut reconnue par Brault, d'après les symptômes cliniques, puis démontrée bactériologiquement pour la première fois par Gillot. Ainsi, elle fût révélée en premier chez l'homme. Suite à ces observations, des recherches furent instituées en 1907 sur des élevages caprins par Sergent et collaborateurs à Alger et Oran (Lounes *et al.*, 2014). Ces études révélèrent l'infection non seulement des caprins mais aussi des autres animaux domestiques (Zairi R *et al.*, 2022) .

2.2. Taxonomie

Les bactéries du genre *brucella* appartiennent à la classe des alpha-2 des *Proteobacteria* comme les genres bactériens *Ochrobactrum*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Agrobactérie*, et *Rickettsia* (Yanagi *et al.*, 1993).

Tableau 1 : Classification de *Brucella* (**Corbel et al., 2010**)

Régne	Bacteria
Embranchement	Proteobacteria
Classe	Alpha Proteobacteria
Ordre	Rhizobiales
Famille	Brucellaceae
Genre	<i>Brucella</i>

12 espèces de *Brucella* sont reconnues:

- Six espèces «classiques» : *B. abortus*; *B. suis*; *B. canis*; *B. ovis*, *B. neotomae* et *B. microti* (Verger et al., 1987 ; Scholz et al., 2008).
- Les espèces découvertes plus récemment: *B. inopinata*, *B. ceti*, *B. microti*, *B. pinnipedialis*, *B. vulpis*, *B. papionis* (Scholz et al., 2011).
- Les espèces *B. ceti*, *B. pinnipedialis* sont isolées des mammifères marins (**Foster et al., 2007**) .
- Trois espèces sont subdivisées en biovars : sept biovars sont identifiés pour l'espèce *B. abortus* (1-6,9) ; trois pour *B. melitensis* (1-3) et cinq pour *B. suis* (1-5).

Un biovarse définit comme un ensemble de souches d'une même espèce possédant des critères biochimiques et physiologiques communs. Les souches de *Brucella* sont classées en fonction de leurs hôtes préférentiels infectés (Verger., 1987).

Tableau2 : Espèces de *Brucella* et pathogénicité pour l'homme (Maurin, 2005a) .

Espèces	Hôte préférentiel	Pathogénicité pour l'homme
<i>B.melitensis</i>	Ovins , caprins, camélidés	Forte
<i>B. abortus</i>	Bovin , ongulés sauvages	Modérée
<i>B.suis</i>	Suidés, lièvres , Rongeurs sauvages	Modérée
<i>B.ovis</i>	Ovins	Nulle
<i>B.canis</i>	Chiens	Faible

2.3. Phylogénie du Bactérie

Le genre *Brucella* est composé de plusieurs espèces de bactéries Gram négatives (Eurofins., 2018), dont certaines sont des agents pathogènes pour les humains et les animaux. La phylogénie de *Brucella* est complexe, avec plusieurs lignées distinctes qui ont évolué à partir d'un ancêtre commun (Larry ., 2022). Les différentes espèces de *Brucella* sont étroitement apparentées et se sont probablement développées à partir d'un ancêtre commun au cours de l'évolution (OMS, 2020b). Les analyses génétiques ont révélé que les différentes espèces de *Brucella* sont regroupées en trois grandes lignées : la lignée classique (*B. melitensis*, *B. abortus* et *B. suis*) (WOAH, 2022), la lignée marine (*B. pinnipedialis*, *B. ceti* et *B. microti*) (Foster *et al.*, 2007) et la lignée des ruminants (*B. ovis*, *B. canis* et *B. neotomae*) (Larry ., 2022). Par exemple, la lignée classique est responsable de la plupart des cas de brucellose chez les humains, tandis que la lignée marine est associée aux infections chez les mammifères marins et la lignée des ruminants est associée aux infections chez les animaux d'élevage tels que les moutons et les bovins. Des études récentes ont également suggéré que certaines espèces de *Brucella* peuvent être subdivisées en sous-groupes, ce qui suggère que

l'évolution de ces bactéries est encore plus complexe qu'on ne le pensait auparavant (Khezzani *et al.*, 2021).

2.4. Isolement et identification

2.4.1. Caractères morphologique

Ceux sont de petits coccobacilles à Gram négatif (à gauche), mesurant 0,6 à 1,5 μm de long et de 0,5 à 0,7 μm de diamètre, non capsulés, non sporulés. A l'état frais, ils sont animés de forts mouvements browniens pouvant conduire à détecter une fausse mobilité. Une caractéristique tinctoriale liée à l'acidorésistance de la paroi peut être révélée par certaines techniques colorimétriques (Stamp, par exemple) permettant un diagnostic bactérioscopique en médecine vétérinaire (placenta ovin à droite) (Maurin, 2005a).

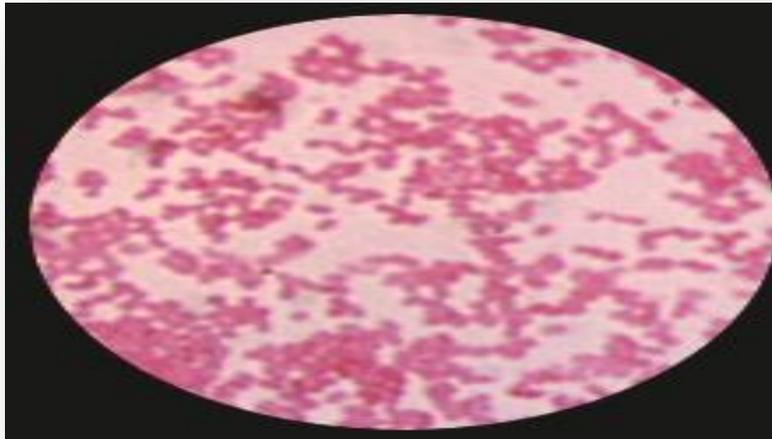


Figure2 : Placenta Ovin

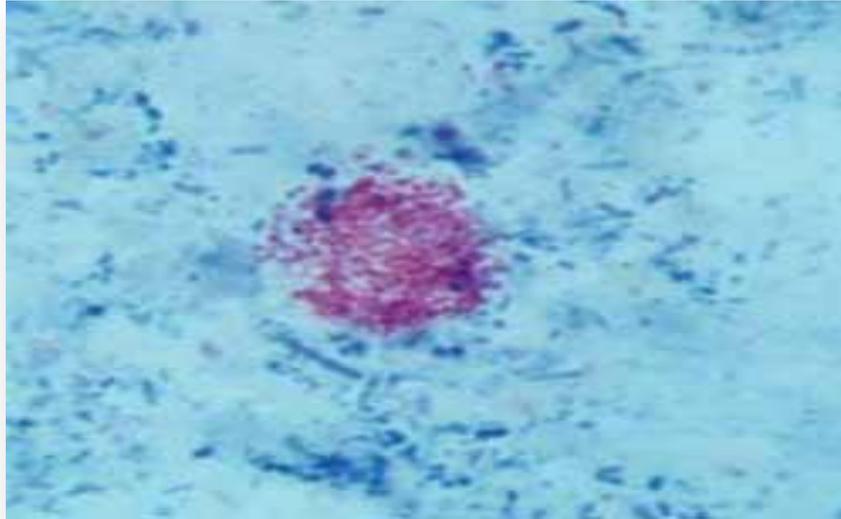


Figure 3 : Coccobacilles à Gram négatif

2.4.2. Caractères cultureux

A. Conditions de culture

L'isolement des *Brucella* à partir des produits pathologiques doit être réalisé en laboratoire équipé de niveau de sécurité biologique 3 (Maurin, 2005). Il nécessite l'emploi de milieu de culture enrichis et une atmosphère contenant 5 à 10% de CO₂ pour certains biotypes ; la thiamine, la niacinamide et la biotine sont nécessaires à la croissance de ces bactéries et certaines souches nécessitent en plus, l'addition de sérum dans le milieu de culture. Leur croissance est favorisée par le sérum, le sang ou par l'érythritol pour certaines espèces, des différents colorants (thionine, fuchsine) sont utilisés pour l'identification des biotypes de *Brucella*. Les *Brucella* croissent à des pH compris entre 6,6 et 7,4 (pH optimal à 6,8) et à une température optimale de 34°C (Freney *et al*, 2000).

B. Aspects cultureux

En isolement primaire, les bactéries déterminent un trouble homogène en 2 à 4 jours en milieu liquide. En milieu solide, les *Brucella* ne sont pas hémolytiques en gélose au sang. Les colonies de *B. melitensis*, *B. abortus* et de *B. suis* sont rondes, lisses, de 3 à 4 mm de diamètre en 2 à 3 jours de culture. Elles sont brillantes, bleuâtres et translucides après incubation pendant 3 à 5 jours et deviennent opaques avec le temps. En revanche, les isolats primaires de *B. ovis* et de *B. canis* montrent toujours des colonies rugueuses, mates, jaunâtres, opaques et friables (Freney *et al*, 2000).

2.4.3. Caractères biochimiques

Les *Brucella* sont aérobies strictes, catalase positives, la réaction de l'oxydase est généralement positive. La production de H₂S et l'activité uréasique varient selon les espèces. L'utilisation des glucides est lente et l'acidification ne se produit pas sur les milieux de culture habituellement utilisés car ceux-ci sont alcalinisés notamment par la production de l'ammoniaque. Il existe quatre groupes de bacteriophages actifs sur les *Brucella* en phase S dont le phage Tbilissi, actif sur *B. abortus* et le phage Berkeley, actif sur *B. melitensis*. Récemment, il est décrit un cinquième groupe actif sur les souches de *Brucella* en phase R (Freney *et al.*, 2000).

2.4.4. Caractères génétiques

Deux catégories d'antigènes sont identifiées :

- **Les antigènes issus de la membrane cellulaire :**

Il s'agit des antigènes portés par le lipopolysaccharide (LPS) qui comporte des déterminants spécifiques A (*Abortus*) et M (*Melitensis*) quant il provient de *Brucelles* en phase lisse S (LPS-S) et un déterminant spécifique R pour (LPS-R) de *Brucella* en phase R.

Les *Brucelles* présentent une unicité antigénique entre les espèces; on peut ainsi déterminer l'espèce qui peut être « A ou M déterminant », et « A et M équivalent ». (Gilles., 1997).

- **Les antigènes intracellulaires :**

Ils sont obtenus après lyse de la bactérie; l'immunoélectrophorèse donne ensuite des arcs de précipitation caractéristiques permettant d'identifier un germe du genre *Brucelle* (Gilles., 1997).

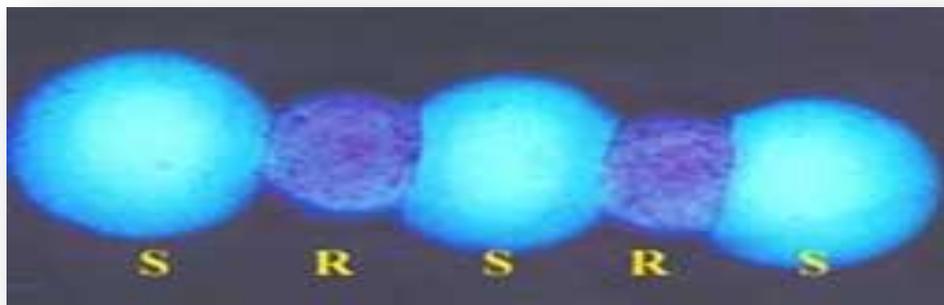


Figure 4 : Colonies S/R colorées selon la technique colorimétrique de White et Wilson
(Maurin, 2005b)

L'identification ultérieure en espèce et biovar fait appel aux caractères suivants: exigence ou non en gaz carbonique (CO₂), production de SH₂, la croissance ou non sur des milieux gélosés contenant des concentrations variables de colorants inhibiteurs tels thionine, fuschine basique sensibilité variable aux bactériophages Tb, Wb, Bk, R/C..... (Maurin, 2005a)

2.4.5. Caractère génomiques

En pratique, la séquence du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S peut être obtenue, mais le genre *Brucella* est monospécifique comprenant qu'une seule espèce: *B. melitensis*, les anciennes espèces étant ramenées au rang de sous-espèces ou nomenclatures. D'autres approches ont été récemment proposées (Maurin, 2005a) .

2.5. Etude biologique des *Brucella*

2.5.1. Résistance et sensibilité dans l'environnement

Les *Brucella* survivent à la congélation et à la décongélation, sous les conditions environnementales habituelles, elles survivent jusqu'à quatre mois dans le lait, les urines, l'eau et les sols humides (Walker et al, 2002) . En effet, les *Brucella* peuvent survivre plus de 8mois dans un avorton à l'ombre, 2 à3 mois dans un sol humide, 3 à 4 mois dans les fèces et plus de 6 mois dans les fosses à purin (Lefèvre et al., 2003). Les *Brucella* sont néanmoins sensibles à la chaleur et sont détruites par la pasteurisation, les matériels contaminés peuvent ainsi, être désinfectés par la vapeur à haute pression (Gourreau et al., 2008) .

2.5.2. Résistance et sensibilité aux antiseptiques

La plupart des désinfectants actifs contre les bactéries à Gram négatifs tuent les *Brucella* (Walker et al., 2002). Ainsi, un traitement chimique est recommandé pour la désinfection des locaux. Le xylène (1ml /l) et la cyanamide calcique (20kg /m³) sont efficaces sur le lisier en 2 semaines. De plus , un traitement d'une heure à l'hypochlorite de sodium (2,5%) à la soude caustique (2-3%), à la chaux éteinte à 20%, ou par une solution de formaldéhyde à 2% , sont efficaces pour la destruction des *Brucella* sur les surfaces contaminées (Gourreau et al., 2008).

Tableau3 :Sensibilité de *brucella* aux agent chimiques et physiques (**Yahiaoui et al., 2015**).

Sensibles aux désinfectants	Inactivation par les moyens physiques
<ul style="list-style-type: none">• Sensible à des nombreux désinfectants hypochlorite de sodium à 1% ; éthanol à 70% .• Solutions d'iode et alcool glutaraldéhyde et formaldéhyde	<ul style="list-style-type: none">• Sensible à la chaleur humide (121°C pendant au moins 15 minutes).• A la chaleur sèche (160 -170°C pendant au moins 1 heure).

2.5.3. Résistance et sensibilité aux antibiotiques

Les *Brucella* sont sensibles à certaines bêta-lactamines : les pénicillines, les céphalosporines de troisième génération (ceftriaxone et céfotaxime). Les macrolides sont modérément actifs (azithromycine étant le plus actifs d'entre eux). En effet, la résistance acquise à ces antibiotiques est rare en clinique .Enfin, bien que son efficacité soit prouvée in vitro, la fluoroquinolone inactive in vivo en monothérapie (**Maurin et al., 2005**) .

2.6. Facteurs de virulence

2.6.1. Paroi bactérienne

La paroi des cellules bactériennes de genre *Brucella* est de type Gram négatif. Le S-LPS de la membrane externe est un important déterminant de virulence ; peu pyrogène et peu inducteur de sécrétion d'interféron-g et de Tumor necrosis factor (TNF- α).D'autre part, ces bactéries sécrètent un facteur (endotoxine) qui empêche l'apoptose des macrophages infectés. Les porines de la membrane externe sont suggérées pour stimuler la réaction d'hypersensibilité de type IV chez les sujets infectés (**Walker et al, 2002**).

2.6.2. Inhibition la réponse immunitaire

La brucellose, sa capacité à établir une infection chronique est due aux mécanismes qu'elle déploie pour inhiber la réponse immunitaire. Parmi les cellules infectées, les cellules dendritiques (DC) et les macrophages (MO) jouent un rôle primordial dans l'induction de la réponse immunitaire (**Schuler et al., 2002**) .

3. Epidémiologie

Le réservoir animal est constitué par de nombreux animaux terrestres. Les principales espèces de *Brucella* sont :

- *Brucella melitensis*, agent causal principal [*B. melitensis* biotype 3 : 90,7 % des souches identifiées] : ovins, caprins (Bassin méditerranéen, Moyen-Orient),
- *Brucella abortus* : bovidés (ubiquitaire)
- *Brucella* suit : suidés (Amérique, Asie, Océanie).

La brucellose est l'infection zoonotique la plus fréquente au monde, avec chaque année plus de 500 000 nouveaux cas déclarés (OMS, 2020b).

On décrit actuellement d'autres réservoirs animaux terrestres et marins et d'autres espèces de *Brucella* : *B. ovis* chez les moutons, *B. canis* chez les chiens, *B. ceti* chez les dauphins, *B. pennipedalis* chez les phoques et les marsouins, *B. microti* chez les campagnols et les Renards (Pierre *et al*, 2022).

3.1. Situation actuelle de la brucellose

3.1.1. Dans le monde

La brucellose est une zoonose majeure, de répartition mondiale car jusqu'en 2001, seulement dix-sept (17) pays étaient indemnes (MEMISH *et al*, 2004). Cette maladie a une prédominance dans le bassin méditerranéen, l'Asie de l'ouest, le Moyen orient, l'Amérique centrale et l'Afrique noire (OMS, 2004). En 2003, sur 174 pays ayant fourni des informations, 157 pays ont déclaré l'existence de l'infection chez les bovins sur leur territoire et 155 pays sur les ovins et caprins (OIE, 2005). La brucellose serait maîtrisée dans les pays développés grâce à la prise de conscience de l'importance de cette maladie et aux mesures prophylactiques adéquates appliquées. En Afrique subsaharienne, la plupart des enquêtes et recherches menées ont porté surtout sur l'épidémiologie et sur les prévalences

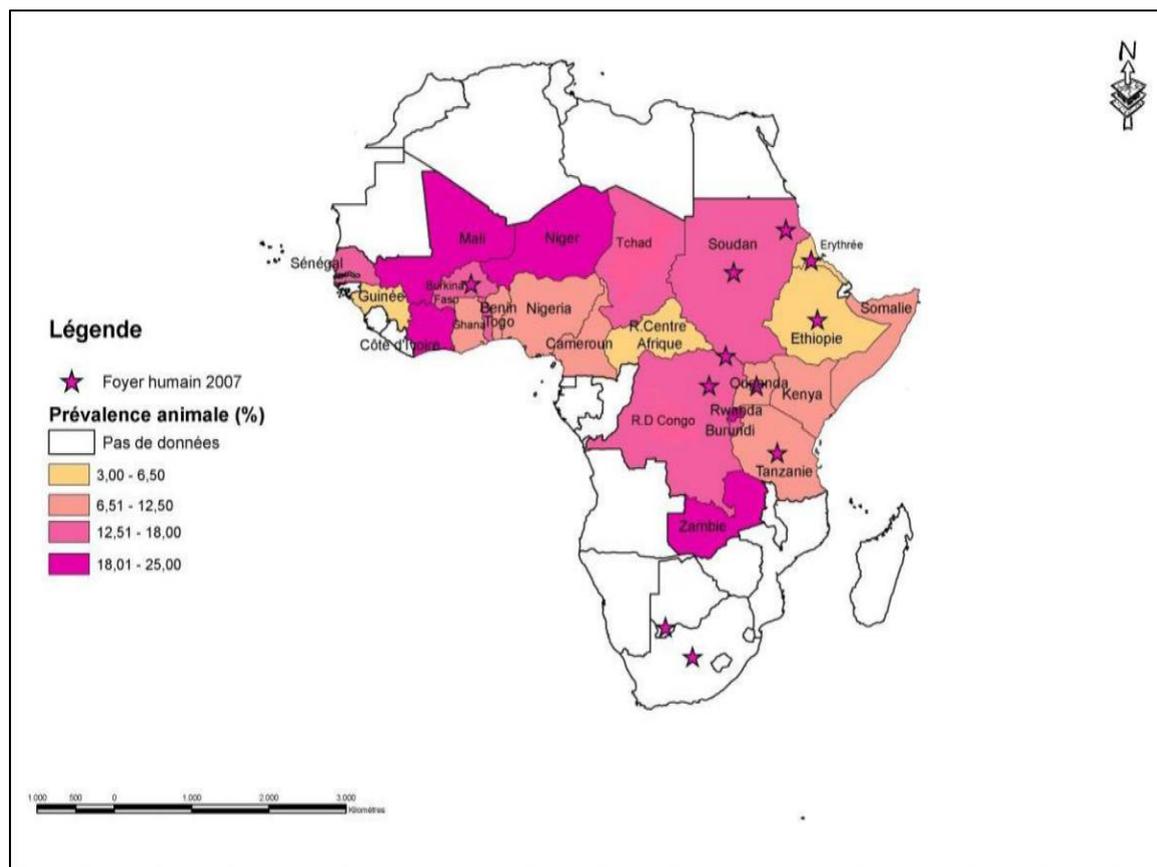


Figure 5 : Carte de la prévalence de la brucellose bovine établie sur la base des données (Boukary *et al.*, 2013)

3.1.2. En Algérie

Quelques années après l'indépendance l'apparition de la première étude sur la brucellose en Algérie menée par Benelmouffok en 1967 (Benelmouffok, 1970), pour reconstituer le cheptel bovin, le ministère de l'agriculture importa des bovins de races pures. Ces animaux étaient indemnes de brucellose à leur arrivée dans notre pays. Mais, ils se contaminaient après un séjour d'un an au maximum. Devant la fréquence des avortements au sein de ces élevages, des sondages furent entrepris. Ils rapportèrent un taux d'infection de 23% au sein du secteur d'état, ce taux est peu élevé par rapport au pays Magrébins, 1,97% pour la Tunisie et 14% pour le Maroc en 1966-1967. L'infection était étendue principalement au nord du pays, certaines wilayas étaient plus infectées que d'autres, ceci s'explique par l'existence de fortes unités de production dans ces régions (Lounes *et al.*, 2021). A l'est du pays, en particulier dans la wilaya de Annaba a permis de diminuer le taux d'infection brucellique qui est passé le 14,1% en 1976 à 1,9% en 1982 (Lounes, 2009). A l'ouest, le taux de la brucellose bovine à Tlemcen, en 1969-1970 chez les bovins des domaines autogérés est de 61,1% puis diminue jusqu' à 1,1% en 1979, pourtant un taux d'infection en 1983 est de 10,8% (Yahiatene *et khadidja*, 2020). En 1984, une épidémie explosa à Ghardaïa, provoquant 600 cas humains.

Tableau 4 : Espèces et biovars, caractéristiques épidémiologiques, hôte animal préférentiel, pouvoir pathogène chez l’homme (Maurin M *et al*, 2005).

Espèce	Biovars	Répartition	Hôte animal habituel	Pathogénicité homme
<i>B. abortus</i>	1 - 6, 9	Ubiquitaire	Bovins, ongulés sauvages	Modérée
<i>B. melitensis</i>	1 - 3	Bassin méditerranéen, Moyen Orient	Ovins, caprins, ongulés sauvages	Forte
<i>B. suis</i>	1 et 3	Amérique, Asie, Océanie	Suidés	Forte
<i>B. suis</i>	2	Europe centrale et occidentale	Suidés, lièvres	Faible *
<i>B. suis</i>	4	Amérique du Nord, Russie	Rennes	Modérée
<i>B. suis</i>	5	Russie	Rongeurs sauvages	Forte
<i>B. canis</i>		Ubiquitaire (fréquence élevée en Amérique du sud)	Chiens	Faible
<i>B. ovis</i>		Bassin méditerranéen	Ovins	Nulle
<i>B. neotomae</i>		Utah (États-Unis)	Rongeurs du désert	?
<i>B. cetaceae</i>		?	Cétacés (dauphins)	?
<i>B. pinnipediae</i>		?	Pinnipèdes (phoques, otaries)	? **

3.3. Mode de contamination

3.3.1. Brucellose bovine

Elle est causée par *B.abortus* et affecte principalement les bovins mais aussi d’autres animaux domestiques et sauvages (Sibille., 2006). Chez les bovins les causes les plus fréquentes de contamination d’un cheptel sont l’introduction d’un bovin infecté et la conservation de jeunes femelles nées de mères infectées. Tous les bovins infectés, malades ou porteurs sains sont considérés comme sources de contagion et la vidange de l’utérus est la phase la plus infectieuse et la plus dangereuse surtout durant la période de la reproduction. Chez la femelle, les matières virulentes les plus importantes sont le contenu de l’utérus grvide expulsé pendant l’avortement ou la mise bas, les sécrétions vaginales et l’urine peuvent être virulentes (Sibille., 2006). Chez le male, en cas d’orchite et épiddymite, *Brucella* peut être excrétée dans le sperme (Akinci *et al.*, 2006).

3.3.2. La brucellose chez les petits ruminants

Les espèces les plus souvent infectées sont les moutons et les chèvres, mais *B.melitensis* peut aussi infecter les bovins et d’autres animaux (Moreno *et al*, 2002), dont la réceptivité varie avec l’âge et la race (Sibille., 2006). Les sources de contagion sont les moutons et chèvres infectés ou malades, en particulier pendant l’agnelage (El Idrissi *et al*, 2001), parfois

le bélier et le bouc peuvent jouer un rôle dans la propagation et la persistance de l'infection car ils sont souvent porteurs (**Fensterbank, 1987**). Toute femelle contaminée élimine, par voie mammaire le germe dans le lait (**Houdinière, 1945**).

3.4. Mode de transmission

3.4.1. Transmission verticale

Ce mode de transmission correspond au passage des germes d'un adulte à sa descendance. Elle peut se réaliser in utero (naissance d'un veau viable mais infecté) ou lors de passage de fœtus dans la filière pelvienne (**Godfroid et al, 2002**). Les jeunes se débarrassent généralement de l'infection s'ils sont résistants. Chez les jeunes femelles infectées (nées de mère brucellique), et à la faveur de sa première gestation voire plus tard un signe d'avortement et la réaction sérologique va apparaître (**Plommet et al, 1973**).

3.4.2. Transmission horizontale

Elle peut être directe ou indirecte

➤ Directe

Avec un contact direct entre les individus infectés et les individus sains lors de la cohabitation. Cela pourrait se faire par la voie orale (léchage du placenta ou avorton), la voie vénérienne (les taureaux par leur semence), ou bien en cas d'une mammite brucellique c'est-à-dire par voie mammaire (**Acha et al, 2003**).

➤ Indirecte

Par l'intermédiaire des locaux, pâturage, aliments, eau et matériaux utilisés lors de vêlage et aussi lors de la traite mécanique en cas d'une mammite brucellique (**Roux, 1979**).

3.5. Voies de pénétration

Les *Brucella* pénètrent l'organisme par plusieurs voies la voie orale très fréquente se fait par léchage de l'avorton, des placenta (**Freycon et al, 2015**), la voie respiratoire et enfin la cutanée. La bactérie gagne par la suite la voie lymphatique (ganglion) puis elle se multiplie et dissémine dans tout l'organisme par voie lymphatique et sanguine (bactériémie) (**Houari, 2020**).

3.6. Facteurs de risque

La brucellose a une répartition mondiale, elle est surtout présente dans des régions dépourvues de programme de veille sanitaire.

➤ Des facteurs liés à l'environnement, aux systèmes et aux modes d'élevage :

Les facteurs environnementaux ayant un impact sur la transmission de la brucellose à l'échelle des troupeaux sont surtout ceux liés au climat (**Akakpo et al, 1987**). Le mode

d'élevage est fortement liés aux mode de vie de la population des troupeaux mixtes comportant des bovins et des petits ruminants, la fréquence des avortement, les pratiques en matière de vêlage jouent également un rôle principale dans la diffusion de la brucellose (**Akakpo et al, 1987**) .

➤ Des facteurs intrinsèques

Les facteurs les plus cités sont :

- ❖ La race : Selon (**Godfroid et al, 2003**), il ne semble pas exister de races bovines plus résistantes que d'autres à l'infection brucellique mais les races importées seraient plus sensibles que les races locales.
- ❖ Le sexe : Les femelles et les mâles sont également atteints par la brucellose (**Godfroid et al, 2002**).
- ❖ L'âge (la prévalence de la brucellose est plus élevé chez les animaux âgés par rapport aux jeunes animaux (**Akakpo et al, 1987**) .
- ❖ L'état physiologique il apparait que chez les femelles laitières, la susceptibilité à l'infection brucellique est corrélée au niveau de la production laitière et à l'état générale de l'animal (**Kouamo et al, 2014**). La gestation est un important facteur de sensibilité.

3.7. Impact Socio-économique

3.7.1. Impacts sociaux

Depuis 1955, les Etats-Unis ont produit des bombes contenant *B. suis* pour l'US Air Force (**Bricker et al., 2000**). Les *brucelles* sont ainsi classées parmi les pathogènes potentiels du bioterrorisme .Trois nouveaux défis ont relancé récemment l'intérêt médical vétérinaire pour cette maladie : son expansion dans la faune sauvage, l'inefficacité des certains vaccins disponibles et la découverte d'un nouveau réservoir chez les mammifères marins dont l'impact est quasi inconnu (**Bricker et al., 2000**).

3.7.2. Impacts économiques

Les pertes économiques sont estimées à près de 600.106 dollars en Amérique Latine (**Godfroid et al., 2013**). En Afrique de l'Ouest, le troupeau laitier est affecté à 30%, et le rendement économique est réduit de 5,8% (**Benkirane, 2001**). On estime en 2002 que la production de lait et de viande en Afrique de l'Ouest pourrait augmenter de 56.168 millions de dollars/an si la brucellose était éradiquée (**Mangen et al., 2002**). Les pertes sont surtout liées aux multiples avortements, l'infertilité des vaches, la baisse de production laitière et la

contamination du lait. L'importance économique que revêt cette zoonose oblige certains pays à recourir aux programmes d'abattage indemnisation et de vaccination à coûts élevés.

4. Pathogénie

4.1. Étapes d'infection brucellique

Est une infection chronique qui évolue en deux périodes :

➤ **Période primaire** : suit la contamination Elle évolue en 3 étapes :

- La première étape correspond à la multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques du lieu de contamination.
- La deuxième étape est marquée, au bout de quelques jours à plusieurs semaines, par la dissémination lymphatique (prépondérante chez les bovins) et sanguine (bactériémie discrète et fugace dans l'espèce bovine où il est très difficile d'obtenir une hémoculture positive) de la bactérie. Cette phase est asymptomatique chez les bovins.
- La troisième étape se traduit par la localisation et la multiplication des *Brucella* en certains sites électifs : les tissus lymphoïdes (notamment les nœuds lymphatiques de la sphère génitale et mammaire), le placenta chez les femelles gravides, les testicules et ses annexes (épididyme) chez le mâle, la glande mammaire, les bourses séreuses et synoviales (bourses carpiennes) ainsi certaines articulations. Ces localisations peuvent s'accompagner de manifestations cliniques caractérisant In brucellose aiguë avortement, orchite ou épидидymite. Elles permettent aussi pour certains (utérus gravide, appareil génital mâle, mamelle), l'excrétion des *Brucella* et leur dissémination.

➤ **Période secondaire** : Est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement d'une immunité (de type cellulaire). Toutefois, la guérison (élimination des *Brucella*) est rare. Les *Brucella* ont la capacité de résister à l'action des mécanismes immunitaires et se maintiennent plusieurs années dans certains sites privilégiées, notamment les nœuds lymphatiques. Une réactivation peut être induite à chaque gestation et l'infection placentaire peut alors provoquer un avortement et/ou induire une excrétion bacillaire à l'occasion des mises-bas. Leur persistance dans les bourses séreuses et articulations peut aussi générer un hygroma ou une arthrite chronique (**Bouhraoua et al, 2021**).

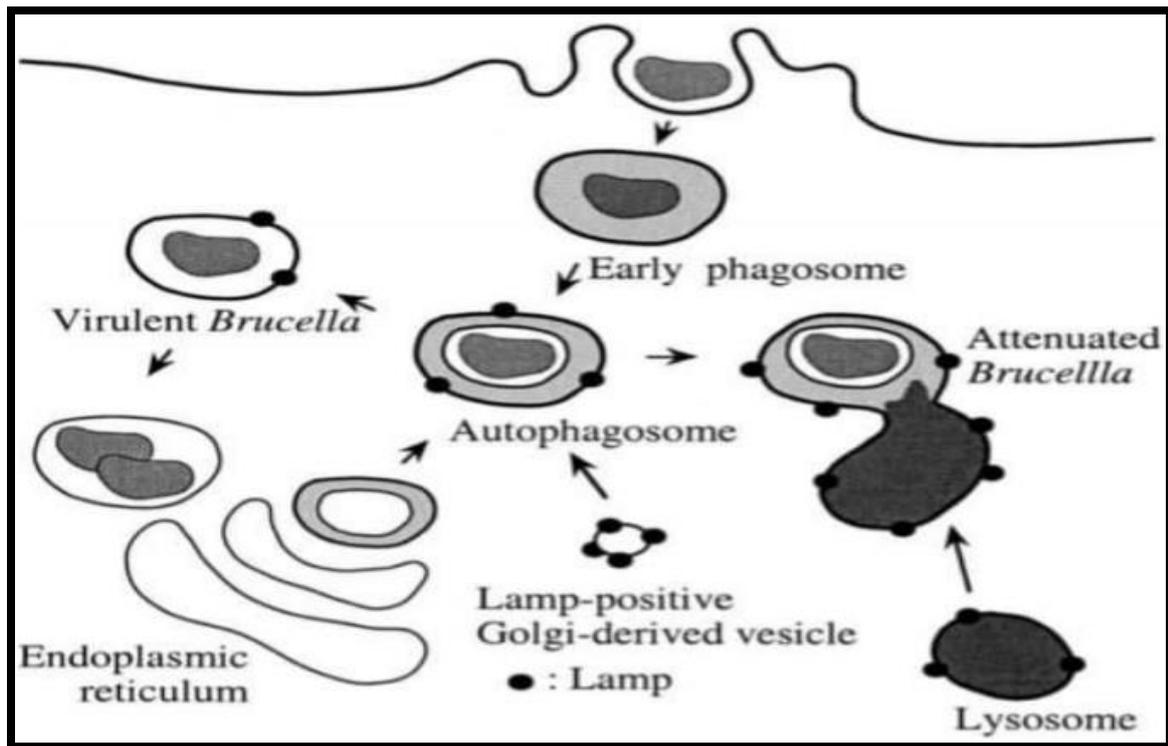


Figure 7 : Les Brucella sauvages se répliquent dans les autophagosomes des macrophages. Inversement, les souches de Brucella atténuées (utilisées pour les vaccins) sont généralement détruites par les lysosomes. LAMP : Lysosome-Associated Membrane Proteins (Matthieu.,2016) .

4.2. Symptômes

4.2.1. Atteintes génitales

4.2.1.1. Chez la femelle

❖ Avortement

Le symptôme cardinal de la brucellose est l'avortement. Celui-ci intervient généralement entre le 5ème et le 7ème mois de la gestation lorsque la génisse a été infectée au moment de la saillie ou au tout début de la gestation. Cependant le moment de l'avortement varie en fonction de facteurs tels que la résistance naturelle à l'infection, la dose infectante et le moment de l'infection. Si l'infection a lieu dans la seconde moitié de la gestation, la vache infectée peut ne pas avorter mais donne naissance à un veau infecté. S'il s'agit d'une femelle, celle-ci peut ne pas présenter d'anticorps spécifiques pendant plus de 18 mois, avant d'avorter sa première gestation. Le pourcentage d'avortement au sein d'un troupeau est très variable. Dans un troupeau n'ayant jamais été en contact avec l'agent pathogène, il est compris entre 50 et 70 p.100. Les veaux nés de femelles brucelliques sont plus faibles que les veaux sains et

peuvent mourir peu après leur naissance. 80 p.100 des femelles infectées n'avortent qu'une fois (**Godfroid *et al*, 2003**).

Lorsqu'un animal infecté est introduit dans un troupeau, une explosion d'avortements a lieu : un certain nombre de vaches avortent chaque mois, le pic étant obtenu environ 12 mois après la première introduction. Puis, l'immunité du troupeau se développe, et la présence de la maladie est seulement marquée par des troubles persistants de la reproduction, des retentions placentaires et des avortements occasionnels. A l'inverse, l'introduction d'une vache saine dans un troupeau antérieurement infecté provoquera l'avortement de cette dernière dans la majorité des cas (**ROUX *et al*, 1989**).

❖ **Rétention placentaire**

La rétention des enveloppes fœtales se produit non seulement après l'avortement, mais aussi après un accouchement apparemment normal, et se caractérise par une délivrance manuelle pénible, avec des membranes fragiles et des adhérences cotylédonaires difficiles à rompre ; les eaux fœtales sont troubles, grumeleuses, couleur chocolat (**Crapletc *et al*, 1973**).

❖ **Mérite brucellique**

Les métrites sont aussi des séquelles possibles de l'avortement. On observe alors des sécrétions mucoïdes rouge-brunes et des exsudats grumeleux blanchâtres pendant environ un mois. Des germes secondairement contaminants, souvent des Streptocoques ou des Escherichia coli, sont généralement la cause de ces métrites. Dans les cas les plus graves, elles peuvent être aiguës et sont suivies d'une septicémie ou de la mort. Plus couramment, elles sont chroniques et entraînent la stérilité, notamment si l'infection se propage dans les trompes de Fallope et perturbe le fonctionnement ovarien. Chez de tels animaux, la reproduction échoue fréquemment et il n'est pas rare que l'intervalle vêlage-vêlage soit multiplié par trois (**RADOSTITS *et al*, 2000**).

❖ **Mammite brucellique**

Elle atteint 5 à 10% des vaches brucelliques et présente les caractéristiques suivantes :

- La vache ne présente pas de symptômes généraux.
- Les symptômes locaux sont discrets et tardifs, les quartiers atteints tuméfiés, chauds, douloureux et rouges, puis, atrophie, voire sclérose avec parfois présence de noyaux indurés perceptible palpation.
- Les symptômes fonctionnels sont de type chronique : modification de l'aspect du lait (grumeaux, caillots de fibrine) et diminution de la production.

- Il n'y a pas de guérison possible (**Imene et khadidja, 2020**) .

4.2.1.2. Chez le male

- ❖ **Diminution de l'ardeur génésique:** Elle est liée à l'apparition d'une orchite.
- ❖ **Orchite:** Chez le taureau, l'orchite et l'épididymite peuvent se produire. L'une des gaines vaginales, parfois les deux, peuvent présenter une tuméfaction aiguë douloureuse, d'un volume parfois double de la normale, sans que pour autant le testicule ait augmenté son volume propre. Le gonflement persiste longtemps et le testicule peut faire une nécrose de liquéfaction allant jusqu'à sa destruction. Les vésicules séminales peuvent être touchées, leur gonflement devient perceptible à la palpation rectale. Les taureaux infectés sont généralement stériles lorsque l'orchite est aiguë, mais ils peuvent recouvrir une fertilité normale si un seul des testicules est touché (**Imene et khadidja, 2020**) . De tels animaux représentent un danger potentiel lorsqu'ils sont utilisés pour l'insémination artificielle (risque de dissémination par le sperme). On considère cependant qu'ils jouent un rôle épidémiologique relativement faible (**Garin., 1993**).

4.2.2. Atteintes extra-génitales

4.2.2.1. Arthrites : Arthrites d'évolution chronique ponctuées par des poussées aiguës, siégeant surtout au grasset, au jarret et parfois au genou ou à l'articulation coxo-fémorale (**Mohamed, 2016**).

4.2.2.2. Hygromas : Les hygromas uni ou bilatéraux, en particulier au niveau de l'articulation du carpe peuvent se rencontrer chez 66 % des animaux lors d'infection chronique (**Godfroid et al, 2003**).

4.2.2.3. Autres localisations : Elles sont rares. Il s'agit de localisations ostéo-articulaires, nerveuses, hépatiques et spléniques (**PILLY E., 1988**).

En conclusion, le signe clinique majeur de l'infection brucellique est donc l'avortement. Cependant, il faut signaler que de nombreux animaux asymptomatiques demeurent porteurs chroniques et excréteurs potentiels (**Garin, 1993**) .



Figure 8 : Hygroma important au niveau de L'articulation de carpe gauche d'un bovin
(**Bouhraoua et al, 2021**)

4.3. Lésions

De façon générale, les organes des animaux morts de brucellose présentent des altérations histologiques spécifiques. Une lympho-adénite locale est systématique, avec hyperplasie lymphoïde (**Sibille., 2006**) . La cavité utérine contient une quantité variable d'exsudat gris sale, consistant ou visqueux, chargé de flocons purulents de volume variable. Les cotylédons de la matrice sont nécrotique, gris jaunâtre, et recouverts d'un exsudat collant, brunâtre et sans odeur. Chez l'avorton, un œdème sous cutané important se développe, les cavités splanchniques sont remplies d'un exsudat séro-sanguinolent (**Godfroid et al, 2002**). Les eaux fœtales sont troubles et parfois jaunâtres (**Ganiere, 2004**).

5. Caractéristiques de la réponse immunitaire vis-à-vis de *Brucella*

L'immunité humorale (qui repose sur les anticorps) est principalement efficace sur les agents extracellulaires tandis que l'immunité à médiation cellulaire est surtout active sur les agents à développement intracellulaire : virus, bacille de Koch (BK), *Brucella*... Après reconnaissance par le TLR, les brucelles sont phagocytées par les CPA (macrophages et cellules dendritiques), qui exposent à leur surface des antigènes bactériens reconnus par des lymphocytes T CD4. Ces derniers sécrètent alors des cytokines stimulant notamment la prolifération de lymphocytes T helpers I (Th1). Les Th1 produisent de l'interféron gamma (IFN1), qui favorise la destruction des brucelles intracellulaires par les macrophages et les

RAPPELE BIBLIOGRAPHIQUE

lymphocytes cytotoxiques T CD8+. Les lymphocytes T helpers 2 (Th2) sécrètent des interleukines (IL-4, IL-5, IL-10) stimulant la prolifération des lymphocytes B et la production d'anticorps. La réponse Th2 inhibe la réponse Th1, et vice versa. La réponse de type Th1 est généralement insuffisante chez les patients atteints de brucellose chronique : chez qui, les brucelles peuvent se répliquer et persister durablement dans les macrophages (**Clara, 2014**).

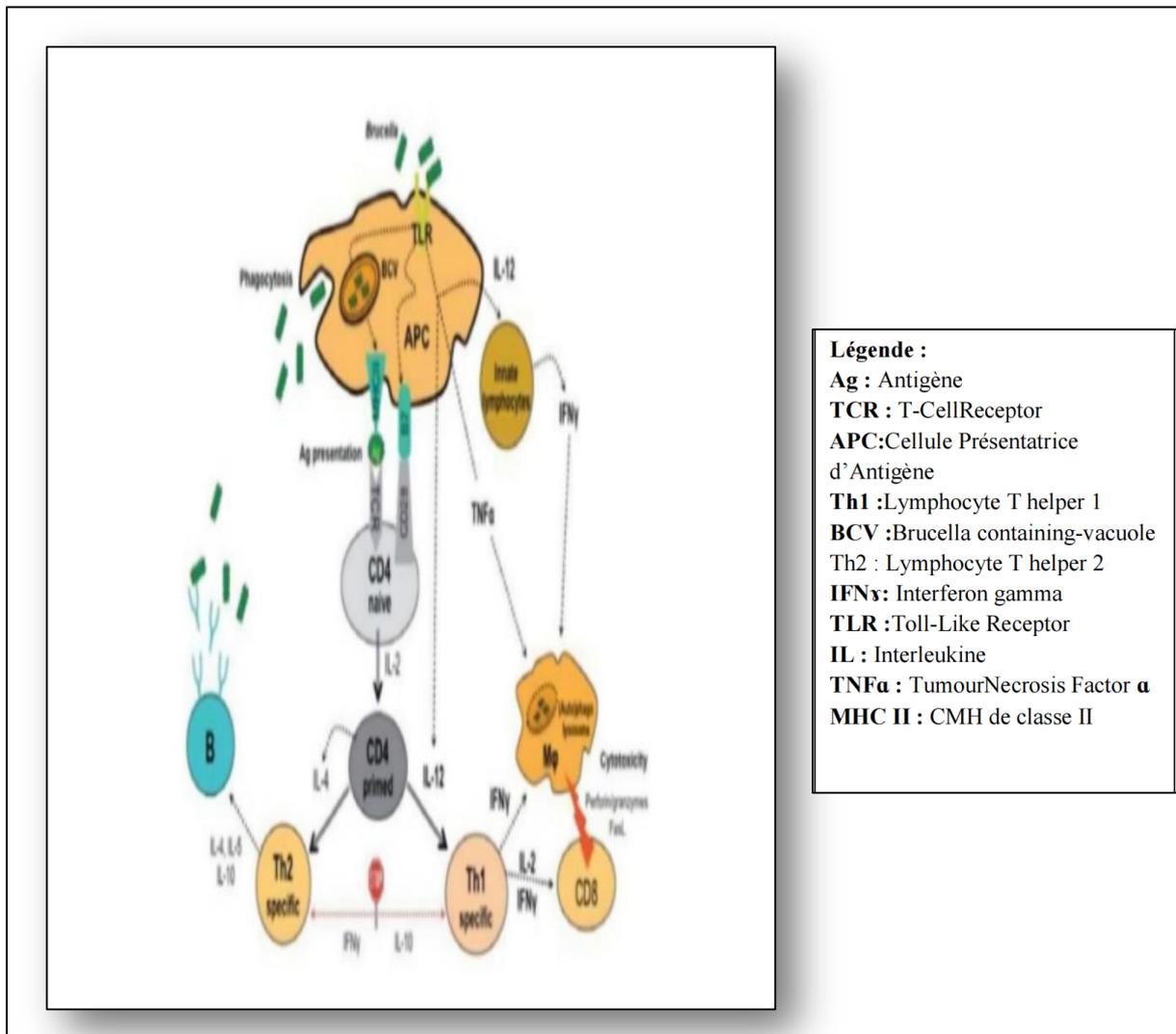


Figure 9 : Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre brucella (**SKENDROS *et al.*, 2013**)

6. DIAGNOSTIC

6.1. Diagnostic direct

6.1.1 Culture du germe

Elle se fait à partir de prélèvements sanguins, de liquide céphalo-rachidien, de pus d'abcès, de ganglions prélevés. L'hémoculture est le plus souvent positive à la phase aiguë, voire subaiguë de la maladie, la culture à partir de biopsie ou de pus montre des colonies transparentes convexes aérobies strictes, catalase +, oxydase +, la lecture est lente et les germes très exigeants, ce qui en limite l'intérêt (**Bodelet, 2002**). L'isolement des *Brucella* en culture est la technique de référence pour établir un diagnostic certain de brucellose. Toute suspicion doit être signalée au laboratoire réalisant la mise en culture des prélèvements, en raison du risque élevé de contamination du personnel technique. Les cultures doivent être réalisées en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3. La bactérie est le plus souvent isolée à partir du sang par hémoculture. Il est indispensable que le clinicien précise l'orientation clinique, afin que les flacons insérés dans des systèmes automatisés puissent être incubés plus longtemps. L'hémoculture est à peu près constamment positive dans la phase aiguë, et encore fréquemment dans la phase subaiguë focalisée. La recherche des germes n'est que très exceptionnellement positive dans les brucelloses chroniques. La recherche des brucelles peut se pratiquer à partir d'autres prélèvements (ganglion, moelle osseuse, liquide céphalo-rachidien, pus de foyer...). Ces prélèvements serontensemencés sur gélose au sang et gélose chocolat et incubés à 37 °C sous 5 à 10 % de CO₂. La culture est lente (> 48 heures). Les colonies lisses, translucides, non hémolytiques, à bords réguliers, de coccobacilles à Gram négatif sont aérobies strictes, catalase +, oxydase + et possèdent une uréase et une nitrateréductase (**Chakroun et al., 2007**).



Figure 10 : Culture de bactérie *Brucella* (Chakroun *et al.*, 2007) .

6.1.2. PCR

La Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) est une technique sensible et spécifique réalisée à partir du sang ou du sérum à la phase aiguë bactériémique et à partir de biopsies tissulaires ou de suppurations au cours des formes focalisées de brucellose. Les principales cibles utilisées sont le gène *bcs31*, codant pour une protéine de 31 kDa, et la séquence d'insertion IS711, dont plusieurs copies sont présentes dans le génome. La plupart des techniques sont spécifiques de genre et ne permettent pas de déterminer l'espèce en cause.

Leur intérêt réside principalement dans le diagnostic aigüe en cas d'antibiothérapie empirique négative la culture et en cas de formes focalisées de brucellose, la sensibilité de la PCR se révélant supérieure à celle de la culture Diagnostic indirect (Bricker *et al.*, 1994)(Queipo., 1997).

6.2. Diagnostic indirect

Les réactions sérologiques utilisées dans le diagnostic de la brucellose sont nombreuses, mais il existe une parenté antigénique avec d'autres germes (*Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* O9, *Vibrio cholerae*) à l'origine de fausses réactions positives. Les IgM apparaissent les premières et sont décelées à partir du 10^{ème} jour après le début clinique de la

maladie. Les IgG sont décelables ensuite, et les titres des deux classes (IgM et IgG) s'élèvent ensemble pendant la phase aiguë de la maladie. Le taux d'IgG devient alors prépondérant, surtout dans les phases tardives de l'infection aiguë (**Chakroun et al., 2007**). Dans la phase chronique, les IgM disparaissent tandis que les IgG persistent. Il est important toutefois de préciser qu'on ne peut pas différencier par la nature des anticorps la phase d'évolution de la maladie, car la cinétique des différentes classes d'anticorps n'est pas absolue et varie d'un individu à l'autre (**Achref., 2020**).

6.2.1. Séro-agglutination lente de Wright (S.A.W)

Décrite par Wright en 1897, elle fut ensuite standardisée par Renoux et Gaumont en 1966 (**Bodelet, 2002**). Cette réaction est retenue comme méthode de référence pour l'O.M.S. Elle consiste à rechercher l'agglutination des *Brucella* en présence de dilution du sérum à étudier. Elle permet d'identifier les IgM et IgG, c'est la méthode la plus précocement positive (10 ou 15^{ème} jour), permettant le diagnostic de brucellose aiguë mais se négative rapidement ; ainsi elle est souvent négative pour la brucellose subaiguë et presque toujours négative pour la brucellose chronique Elle est considérée positive si le titre est supérieur à 1/80 (soit 100 UI), mais la présence d'agglutination pour un titre inférieur doit conduire à répéter la sérologie deux semaines plus tard pour ne pas méconnaître une brucellose débutante. L'agglutination peut conserver un titre supérieur à 1/80 pendant plus de 7 mois (**Bodelet., 2002**).

6.2.2. Épreuve à l'antigène tamponné (E.A.T) ou card-test ou encore réaction à l'antigène au rose Bengale

Le diagnostic de la brucellose peut être établi soit par l'isolement du microorganisme dans le sang ou les selles, soit par la démonstration de la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du patient. EAT Cette réaction d'agglutination se fait sur de petites cartes (d'où card-test). Initialement destinées à un usage vétérinaire par Nicoletti ; elle fut introduite en France et appliquée à l'Homme. Cette réaction consiste à mettre en présence le sérum du patient et une suspension de *Brucella abortus* inactivée (par la chaleur et le phénol) et tamponnée en milieu acide (pH 3,6) (**Bauriaud et al., 1977**) qui permet de réduire l'apparition d'agglutination par les IgM et encourager les agglutinations avec les IgG, réduisant par conséquence les réactions croisées (agglutination non spécifique) (**Corbel.,1972**)(**Allan et al., 1976**) (**Nielsen., 2002**) (**Poester et al., 2014**) enfin colorée par le rose Bengale pour faciliter la lecture de la réaction . Cet antigène est titré vis-à-vis du sérum étalon anti *Brucella abortus* (**Bauriaud et al, 1977**) (**Bodelet, 2002**) . Elle permet la détection d'anticorps agglutinants de type IgG et IgM. La réponse est positive précocement (2 à 3

semaines) et la sensibilité de la technique est très élevée (> 95 %) (OIE, 2018) . Il se produit une agglutination s'il existe des anticorps sériques de type IgM ou IgG. Les avantages de cette méthode sont : sa rapidité (4 minutes), sa sensibilité (91,4 à 100%), sa spécificité et enfin son utilisation pour les dépistages de masse. elle sera suivie d'un (OIE, 2018) SAW pour quantification si le résultat est positif. Elle est surtout utilisée pour les diagnostics de brucellose aigue et suraigüe mais aussi pour la brucellose chronique, car elle reste positive très longtemps (Bodelet, 2002) .

6.2.3. Réaction de fixation du complément (R.F.C)

Cette réaction met en évidence la présence des IgG .Elle est donc positive plus tard mais plus longtemps que la sérologie de Wright. Elle se positive après 25 à 30 jours d'évolution, atteint un maximum vers le 3ième mois, il se produit ensuite une involution des anticorps jusqu'au 9ième mois (Bodelet, 2002) .C'est une réaction peu sensible et n'est plus très souvent utilisé. Il faut préciser qu'on ne peut pas différencier par la nature des anticorps la phase d'évolution de la maladie car la cinétique des différentes classes d'anticorps n'est pas absolue et varie d'un individu à l'autre. Il est donc tardivement positif et reste plus longtemps positif. Pour les sérums négatifs en agglutination et présentant des taux égaux ou supérieure à 1/10 en fixation du complément, la brucellose semble devoir être incriminée, cependant cette réaction peut être faussement positive dans les mêmes circonstances que le sérodiagnostic de Wright (Chakroun *et al.*, 2007) .

6.2.4. Marqueurs de l'inflammation

La vitesse de sédimentation (VS) et la protéine C réactive (CRP) sont, elles aussi, non spécifiques de l'infection brucellienne mais doivent alerter le clinicien qui doit rechercher une cause infectieuse à leur élévation (Bodelet., 2002).

6.2.5. Méthode ELISA

C'est une méthode immuno-enzymatique automatisée qui possède une bonne reproductibilité, une spécificité et une sensibilité très satisfaisante. Elle permet la détection des IgM, IgG et IgA (Bodelet, 2002) .C'est une méthode très sensible et très spécifique qui reste positive longtemps. Le test ELISA est réalisé 2 à 4 semaines après l'apparition des symptômes. Pour la réalisation de ce test, le LPS de brucella est fourni fixe sur les parois des puits des microplaques en polypropylène. Les sérums ou laits à tester sont dilués et mis à incuber Dans les puits. S'il y a des anticorps spécifiques, il se forme alors des complexes LPS/anticorps fixes sur les parois du puits. Après lavage, une immunoglobuline anti-anticorps

Couplée à une enzyme est mise à incuber, et ce conjugué se fixe sur l'immun complexe. Après un deuxième lavage, le substrat de l'enzyme (tmb) est ajouté dans les puits. Si l'immun complexe est présent, l'enzyme assure la transformation du substrat en un Compose bleu, devenant jaune après blocage. L'intensité de la coloration mesure le taux D'anticorps présents dans l'échantillon. Le seuil de positivité est fixe à partir d'un échantillon De contrôle positif à introduire sur chaque microplaque (**Sibille., 2006b**) .

6.2.6. Réaction d'immunofluorescence (IF)

Elle permet la détection et le titrage des IgG et des IgM (**Maurin, 2005b**) . C'est une réaction très sensible et plus spécifique que les techniques d'agglutination. Les anticorps ainsi mis en évidence apparaissent à peine quelques jours plus tard que les agglutinines, mais persistent plus longtemps, au-delà de 18 mois. Ces anticorps sont le plus souvent présents dans la brucellose chronique (**Maurin, 2005b**) .

6.2.7. Réaction d'hypersensibilité retardée ou Intradermoréaction à la mélitine

Elle consistait en l'injection intradermique de mélitine (filtrat de culture de *Brucella*), suivie d'une lecture 48 heures après (**Debeaumont et al., 2005**). Si une induration et un érythème apparaissaient cela signifiait que le sujet a déjà été en contact avec le germe. Cet antigène était fabriqué par l'I.N.R.A avec beaucoup de difficultés techniques, c'est pourquoi cette dernière a décidé il y a quelques années d'en suspendre la fabrication (**Bodelet, 2002**). En cas de la maladie, une réaction positive qui consiste en une réaction érythémateuse et un œdème local sont observés, l'IDR est positive au cours des atteintes chroniques et en est parfois le seul signe objectif . Cette réaction est peu utilisée en absence de réactif (**GUTIERREZ et al, 2006**) .

Tableau 5: Comparaison des différentes méthodes de diagnostic de la Brucellose (**Molto, 2010**)

Test	Sensibilité	Spécificité	Immunoglobuline détectées	Distinction Vaccinés Maladies	Coût	Faisabilité
EAT	+++ Selon situation Épidémiologique	+++	IgM IgG1 IgG2	NON	Faible	Facile ; Peut se faire sur le terrain
Ring test	+++ Selon la taille de troupeau	++	IgG	OUI Généralement	Faible	Assez Facile mais nécessite Une étuve
Séro – Agglutination de Wright	++	+	IgG2	NON	Faible	Facile
FC	+++	++++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Complicé et nécessite matériel de pointe
BPA	+++	+++	IgG1 IgG2	NON	Faible	Plus Complicé qu'EAT pour résultats équivalents
Elisa Indirect	++++	+++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Difficile
Elisa Compétition	+++	++++	IgG1 IgG2	OUI	Elevé	Difficile
FPA	+++	++++		OUI	Moyen	Facile Faisable sur le terrain, mais nécessite matériel spécifique

7. Prophylaxie

Le contrôle et la prévention de la brucellose passe par le respect d'une hygiène générale dans les élevages et la mise en place au niveau régional d'une brucellose animaux reposant sur des mesures sanitaires ou médicales. Toutes ces mesures ne pouvant être réellement efficaces sans une éducation sanitaire, formation et une mobilisation des professionnels concernés.

En fin, reposant sur des mesures les prophylaxies ne peut être envisagée et espérée ses fruits sans une identification pérenne des animaux et des cheptels et un contrôle strict de leur mouvement (Verger., 1993) .

7.1. Mesure de lutte contre la brucellose animale :

7.1.1. Prophylaxie sanitaire

Le principe de la lutte contre la brucellose bovine est commun à de nombreuses maladies infectieuses et repose sur l'impérieuse nécessité de ne considérer que les cheptels aux dépens des seuls individus (pour les quels l'information disponible est bien moins riche). Il s'agit de dépister les cheptels infectés ; assainir ces cheptels reconnus infectés tout en préservant la statut favorable des cheptels réputés indemnes. Ces objectifs sont atteints par l'association de mesures offensives et défensives. L'éradication de la brucellose des ruminants tenir doit compter de plusieurs notions épidémiologiques essentielles :

- La persistance possible de l'infection durant toute la vie du sujet brucellique : elle impose le dépistage d'animaux infectés (malades et infectés inapparent) et leur isolement.
- La réinfection possible des cheptels par l'intermédiaire des femelles nées de mères infectées : il est préférable d'élever ces jeunes femelles pour la boucherie.
- Le rôle d'autres espèces dans le maintien de l'infection : contrôle toutes les espèces réceptives dans un élevage infecté et les éliminer si elles sont reconnues brucellique.
- Le rôle de la transmission vénérienne : utiliser l'insémination artificielle plutôt que la saillie naturelle.

Le maintien possible des *brucella* dans l'environnement souillé de plusieurs semaines à plusieurs mois : il convient d'éviter la contamination de l'environnement grâce à l'isolement strict des animaux infectés (tout particulièrement en période de la mise ba sau lorsque l'animal présente les signes prémonition d'un avortement) dans un local facile à désinfecter et la mise en place des mesures de désinfection adaptée à savoir la destruction des placentas et autre matières virulente, désinfection des locaux et matériels souillés et enfin la désinfection des litières. Les pâturages contaminés doivent être, en outre, considérés dangereux pendant au moins deux mois. L'application stricte de l'ensemble de ces mesures doit être maintenue pendant la durée nécessaire à l'assainissent. Le cheptel est considéré assaini lorsque tous les

animaux de 12 mois ou plus ont présenté des résultats favorables à au moins deux contrôle sérologique espaces de 3 à 6 mois (**Verger, 1993**).

7.1.2. Prophylaxie médicale

Lorsque le taux de prévalence de départ du troupeau infecté est supérieur à 1% .et lorsque les structures d'élevage ne permettent pas contrôle suffisamment strict des cheptels et des animaux on le plus cours à des mesures de prophylaxie médicale reposant sur la vaccination. Les vaccins les plus utilisés actuellement sont les vaccins B19 et RB51 chez les bovins. Ces vaccins ont prouvé leurs efficacités, car ils réduisent considérablement le nombre des avortements brucellique et diminuent aussi la circulation de l'infection au sien des troupeaux. Cependant, le plus souvent ces vaccins ne permettent pas à eux seuls l'éradication de l'infection au niveau d'une région. De plus ils induisent des séquelles sérologiques plus au moins durables. En réalité, la prophylaxie médicale ne peut conduire à elle seule à l'éradication de la brucellose, elle constitue une méthode d'appoint nécessaire en milieu largement infecté (**Garin, 1993**).

7.2. Mesures sanitaires

Le traitement de la brucellose animale apparaît comme une opération hasardeuse et dangereuse qui doit être proscrite à cause de la difficulté d'obtenir une stérilisation définitive. Par conséquent, les efforts doivent être plutôt dirigés vers le contrôle et l'éradication de la maladie (**SHY NJLA et al, 2005**). En Général, la lutte repose sur le traitement thermique des aliments, la protection des professionnels à risque, la vaccination du bétail, l'élimination des animaux infectés et le contrôle des mouvements d'animaux. En Afrique subsaharienne, la politique d'élimination des animaux infectés n'est pas applicable en ce moment par manque de volonté politique nécessaire à la mise en place de moyens de compensation et de logistique de dépistage. Ainsi, ces impératifs obligent à pratiquer une prophylaxie médicale ou au mieux médico-sanitaire même si les mesures prises sont à l'état embryonnaire ou presque inexistantes (**Zinsstag et al, 2003**). Cela tient de la subtilité de la contagion, la discrétion des symptômes, les difficultés du diagnostic et du dépistage (**Sante et Veterinaire EGRS, 2014**). La lutte offensive repose sur le dépistage des animaux infectés, leur isolement et élimination rapide. La lutte défensive concerne surtout la surveillance de routine, le contrôle à l'introduction d'un animal et la protection d'un cheptel sain à la contamination de voisinage.

7.3. Vaccination

Les meilleurs résultats d'un programme de vaccination systématique sont obtenus pour une couverture annuelle de 70 % à 90 % pendant 7 à 10 ans sur des veaux de moins de huit (8) mois (**Sante et Veterinaire EGRS, 2014**). Elle est indiquée en milieu très infecté pour limiter les pertes liées aux avortements et en milieu menacé pour réduire les risques de dissémination de l'agent pathogène. En revanche, elle est contre-indiquée en milieu indemne en raison des interférences possibles avec la prophylaxie sanitaire fondée sur le dépistage. La vaccination de rappel n'est pas recommandée. On distingue les vaccins à *Brucella* vivants et les vaccins à *Brucella* inactivés. Les vaccins B19 et RB51 à *B. abortus* sont utilisés chez les bovins (**El Idrissi et al, 2001**). Par ailleurs, le seul vaccin autorisé chez les petits ruminants, est modifié avec la souche Rev1 à *B. melitensis* (**Sante et Veterinaire EGRS, 2014**). La vaccination doit être associée au dépistage et à l'élimination des animaux infectés pour conduire à une éradication de la maladie.



PARTIE
PRATIQUE

1. Matériel et Méthodes

1.1. Présentation générale de la région d'étude

La wilaya de Tébessa se situe au Nord-est de l'Algérie ; s'étend sur une superficie de 13.878 km², c'est une zone qui regroupe un vaste étendu steppique de notre pays en position de transit entre le Nord et le Sud, son altitude varie entre -1 et 1713m. Elle est limitée au Nord par la Wilaya de Souk-Ahras, au Sud par la Wilaya d'El Oued, à l'Ouest par les Wilayet d'Oum El-bouaghi et Khenchela et à l'Est par la république tunisienne sur une distance de 300 km de frontière. Sur le plan administratif, la wilaya compte 28 communes regroupées en 12 Daïras. Cette région étant une zone de transition météorologique est considérée comme une zone agro-pastorale avec une présence d'un nombre important de phénomènes (gelée, grêle crue, vent violent). Elle se caractérise par un hiver froid avec faible pluviométrie, et un été chaud et humide (la température dépasse 40°C en juillet). La superficie totale de la wilaya se divise en quatre zones homogènes du côté des données climatiques.

- La zone Subhumide (400 à 500 mm/an) très peu étendu, il couvre que quelques ilots limités aux sommets de quelque reliefs (une superficie de 135000 ha, soit 10% de la superficie totale).
- La zone Semi-aride (300 à 400 mm/an) représenté par les sous étages frais et froid, il couvre toute la partie Nord de la wilaya avec une superficie de 229450 ha.
- La zone Subaride (200 à 300 mm/an) couvre les plateaux steppiques d'Oum-Ali, Safsaf-El-Ouesra, Thlidjene et Bir El-Ater, occupe environ 50% de la superficie totale de la wilaya.
- la zone Aride ou saharien doux (-200 mm/an), commence et s'étend au-delà de L'Atlas saharien et couvre les plateaux de Negrine et Ferkane, soit une superficie de 202457 ha.

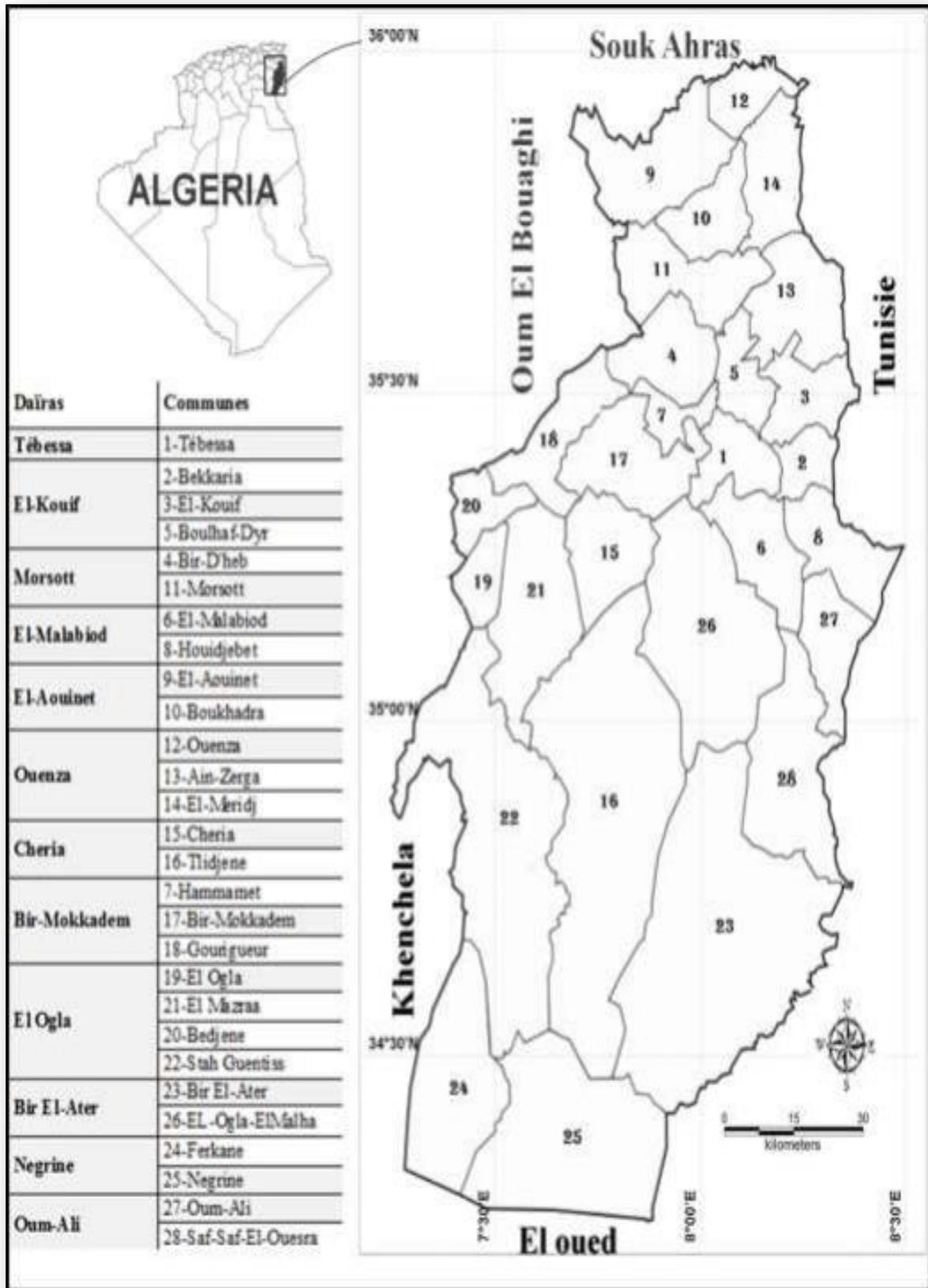


Figure 11 : Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa.

1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins

1.2.1. Conception d'étude et animaux

Notre travail est défini comme une étude transversale, effectué sur un échantillon de 215 sérums d'animaux de trois espèces : ovine, caprine et bovine. Elle était réalisé dans au d'une période étalant entre Janvier 2023 à Avril 2023, dans 15 communes de la wilaya de Tébessa.

Les sérums ont été numérotés et identifiés pour assurer une traçabilité adéquate. Les analyses sérologiques ont été réalisées dans la Policlinique Bachir el- MANTOURI Tébessa.



Figure 12 : Prélèvements sanguins d'animaux

1.3. Tests sérologiques

Tous les sérums obtenus ont été testé trois fois par deux tests sérologiques :

- Test de Rose Bengale avec un protocole standard et un autre modifié (Rose Bengale Antigène for RAS test (Diagnostic sérologique de la Brucellose par l'Epreuve de l'Antigène Tamponné.
- Test Séro-agglutination lente de Wright (SAW).

1.3.1. Réactifs

1.3.1.1. Test de Rose Bengale

Tous les sérums obtenus ont été testé via un test EAT, un kit Rose Bengale® fabriqué par CENOGENICS CORPORATION Registered to ISO 13485 Morganville, NJ 07751, USA. Nous avons utilisé le PG-0697-03, à usage vétérinaire. (EAT) ou Rose Bengale – ID.vet Innovative Diagnostics)).

Un flacon de 10 ml d'une suspension de *B. abortus*, USDA strain 1119-3.

1.3.1.1.1. Description et principe

L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT) ou Test de Plaque de Rose Bengale (RBTP) repose sur une réaction antigène-anticorps conduisant à une agglutination. Il permet la mise en évidence d'anticorps spécifique de *B. abortus* (bovins), *B. melitensis* (petits ruminants).

- C'est une méthode facile à mettre en œuvre et pouvant être appliquée à un grand nombre de sérums
- La culture lisse de *Brucella* spp. colorée avec le colorant Rose Bengale est mélangée dans une suspension acide tamponnée et mélangée à un volume égal (gouttes) de sérum.
- Elle est basée sur une méthode d'agglutination sur lame en milieu acide (ph $3,65 \pm 0,05$) qui permet de réduire l'apparition d'agglutination non spécifique.
- La coloration au Rose Bengale offre une meilleure lisibilité des agglutinats.
- Ce réactif est titré suivant la directive CE 64/432 de façon à donner un résultat positif avec sérum étalon OIEISS dilué au 1/45 et un résultat négatif avec une dilution au 1/55.

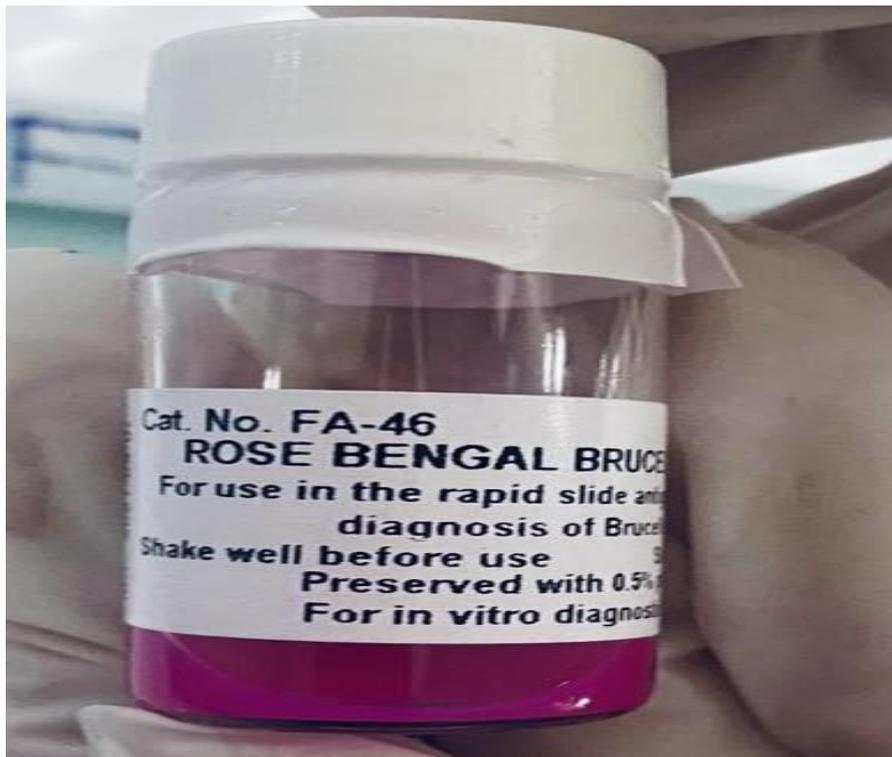


Figure 13 : Réactif de Rose Bengale (Photo personnelle).

Lorsque des bactéries viables sont introduites dans un hôte sensible, une réponse immunitaire se produit généralement. Cette réponse immunitaire entraîne la production d'anticorps appelés agglutinines. Le principe du test est une réaction immunologique (agglutination) entre les anticorps produits contre les bactéries viables (agglutinines) et l'antigène bactérien correspondant.

1.3.1.2. Test de séro-agglutination de Wright

Le test SAW permet le diagnostic sérologique des formes aiguës de brucellose. Ce test quantitatif se positive précocement, dès le 10^{ème} ou 12^{ème} jour, dans la forme aiguë de la brucellose, mais se négative rapidement car il détecte les IgM. Il est parfois négatif dans la brucellose subaiguë et presque toujours dans les brucelloses chroniques. Il n'est recommandé ni pour les enquêtes épidémiologiques, ni pour les diagnostics de brucellose chronique.

1.3.1.3. Autres matériels nécessaires

1. Contrôle positif et négatif.
2. Micropipettes délivrant 30 μ l.
3. Support de réaction : lames de verre, microplaque, carton ou Bristol.
4. Agitateur à usage unique : bois, verre ou plastique.

1.3.2. Mode opératoire

1.3.2.1. Protocole opératoire de TRBs

1. Mettre le réactif et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai diminue à faibles températures.

2. Déposer 30 μ L de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame.

NB :

✓ Il est recommandé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour contrôler la fonctionnalité du réactif, ainsi que le modèle de comparaison pour l'interprétation des résultats.

✓ Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

3. Mélanger le réactif de RB vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi.

4. Déposer une goutte (30 μ L) près de chacune des gouttes précédentes.

5. Mélanger les gouttes avec un bâtonnet en tâchant d'étaler le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Employer des bâtonnets différents pour chaque échantillon.

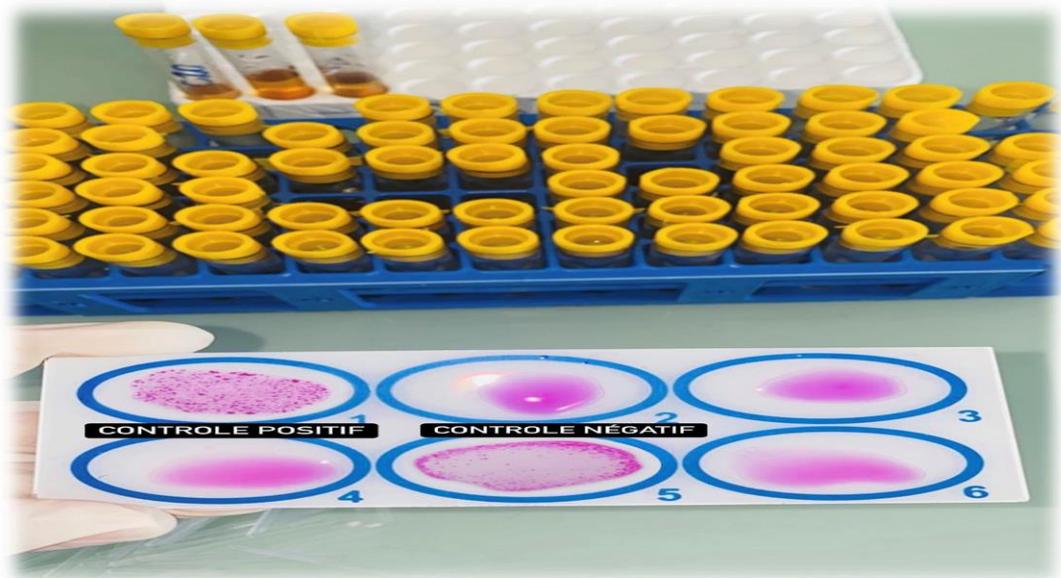


Figure 14 : Contrôle positif et négatif de Rose Bengale (**Photo personnel**).

N.B : Tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation. Les tests doivent être effectués à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$). Il est important de bien agiter le flacon d'antigène coloré (par retournement du flacon) avant son utilisation afin de garantir l'homogénéisation de la suspension.



Figure 15 : Etapes de la méthode qualitative (Photo personnelle).

5. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

1.3.2.2. Protocole opératoire TRBm

1. Mettre le réactif et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai diminue à faibles températures.

2. Déposer 30 μL de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame.

3. Mélanger le réactif de RB vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi.

Déposer une goutte (60 μL) près de chacune des gouttes précédentes.

1. Mélanger les gouttes avec un bâtonnet en tâchant d'étaler le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Employer des bâtonnets différents pour chaque échantillon.

5. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.



Figure 16 : Résultat après 4min d'agitation.

1.3.2.3. Protocole opératoire standard du test SAW

1.3.2.3.1. Méthode qualitative

1. Porter le flacon (réactif) à la température ambiante (18-30°C). Agiter le flacon pour homogénéiser la suspension.
2. Sur le support, déposer 30 µl du sérum à étudier et 30 µl de réactif sur différents cercles d'une lame.

1.3.2.3.2. Méthode semi-quantitative

1. Mettre horizontalement les tubes de sérums testés positifs en mode qualitatif dans un portoir (nous avons utilisés uniquement six sérums parmi les 11 sérums positifs).
2. Pour faire le titrage (dilution), mettre verticalement, quatre tubes devant chacun du tubes déposés horizontalement, numérotés de 1/80, 1/160, 1/320 et 1/640.
3. Déposer 1000 µl de l'eau physiologique dans tous les de quatre rongés horizontale.
4. Éliminer 50 µl de tous les tubes du quatre rongés.
5. Déposer 50 µl de sérums dans les tubes de première rongé (1/80).
6. Prendre 50 µl du tube de première rongé et déposer dans le tube correspondant de deuxième rongé (1/160), et 50 µl du deuxième rongé déposé dans le troisième rongé

(1/320), puis 50 µl du troisième déposé dans le quatrième et on termine par l'écartement de 50 µl du quatrième rangé.

7. Homogénéisation par agitation.

8. Ajouter une goutte de réactif chaque tube de quatre rangés.

9. Une nouvelle agitation, pendant une minute et incubation dans 37°C durant 24 heures.

10. Lecture et interprétation après 24 heures, est comme suite : Plusieurs types d'agglutinats peuvent être observés

- Agglutinats en crêpe dans le fond du tube avec liquide clair (+++).
- Agglutinats très visibles avec liquide légèrement trouble (++)
- Agglutinats visibles seulement à l'agglutinoscope (+).
- L'absence d'agglutinats traduit une réaction négative (-).

1.3.3. Lecture et interprétation

Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir retiré la lame de l'agitateur. La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti-*Brucella* égale ou supérieure à 25 UI/mL. Dans la méthode semi-quantitative, le titre est défini comme la plus grande dilution qui donne un résultat positif. La Lecture et l'interprétation après 4 minutes, est comme suite :

- Agglutination 4 minutes (+) ; formation nette de microagglutinats.
- Agglutination 3minutes (++) ; c'est une agglutination incomplète avec agglutinats de taille moyenne.
- Agglutination 2 minutes (+++) ; c'est une agglutination presque complète ;gros agglutination.
- Agglutination une minute (++++) ; c'est une agglutination totale.
- L'absence d'agglutination traduit une réaction négative (-).

1.4. Organisation, présentation graphique et analyse des données

Après avoir analysé les sérums, nous avons procédé à l'organisation (**calcul de prévalence individuelle apparente et intervalle de confiance**), la présentation graphique (**Tableaux et Diagrammes**) et l'analyse statistique de résultats, pour analyser l'association entre la séropositivité et les facteurs de risque putatifs.

1.4.1. Calcul de taux de prévalence apparente et l'intervalle de confiance

Le taux de prévalence individuelle apparente (PA) est le rapport entre le nombre de sujets testés positifs par le test EAT sur le nombre total de sujets testés (équation 01) :

$$PA = \frac{\text{Nombre de sujets testés positifs}}{\text{Nombre de sujets testés}}$$

L'intervalle de confiance à 95% de prévalence apparente a été établi à partir de la formule suivante : $IC = PA \pm 1.96 \sqrt{\frac{PA \times q^A}{n}}$; D'où : *.PA : La prévalence apparente, *.qA = (1-PA) et *. n: La taille de l'échantillon.

1.4.2. Analyse statistique pour les facteurs de risque

Après avoir collecté et organiser nos données, nous avons utilisés en première étape une analyse uni variable pour analyser l'association statistique entre la variable dépendante (séropositivité apparente) et chacune des variables explicatives (Espèce, Sexe, Avortement), le test de khi-deux a été adopté pour analyser l'association statistique. En deuxième étape, chaque variable indépendante a une valeur $p \leq 0.10$ en première étape, a été soumis à un modèle de régression logistique multivariable. Les données ont été organisées dans des tableaux croisés et présentées graphiquement par l'utilisation du logiciel Microsoft Excel 2016. L'analyse statistique s'effectuée à l'aide du logiciel SPSS 26 (Zairi *et al.*, 2022).

1.4.3. Estimation de prévalence réelle, paramètres intrinsèques et paramètres extrinsèques de test utilisé

Dans cette étape, nous avons utilisé simultanément les résultats de trois tests, dont deux tests biologiques (EAT et test de Wright) avec les résultats du test EAT nouveau. Les résultats des 215 sérums, obtenus par les trois tests étudiés doivent être combiné avec une méthode statistique pour bien estimer l'exactitude des tests de diagnostic utilisés (paramètres intrinsèques et extrinsèques) et la valeur de prévalence réelle.

Un modèle statistique d'analyse des classes latentes par approche bayésienne (MACLAB) est une méthode probabiliste permet de combiner différentes sources d'informations intégrant les résultats combinés de plusieurs tests sérologiques d'un grand nombre d'échantillons testés avec des informations d'experts (informations à priori) sur la sensibilités et la spécificités des tests utilisés, à fin d'estimer la sensibilité et la spécificité des tests évalués, ainsi que la prévalence réelle (a posteriori)de la maladie dans l'échantillon étudié (Berkvens *et al.*, 2006) (Zairi *et al.*, 2022)(Cheung *et al.*, 2021). Pour le premier test

(T_1), de sensibilité(Se_1) et de spécificité(Sp_1), la probabilité d’obtenir un résultat positif chez un individu est égale à la somme de la probabilité d’obtenir un résultat positif chez un individu atteint ($Diagnostic^+, M^+$) ou «Vrai positif» $P(T_1^+ / M_1^+)$ et de la probabilité d’obtenir un résultat positif chez un individu indemne ($Diagnostic^+, M^+$) ou « faux positif » $P(T_1^+ / M_1^+)$.

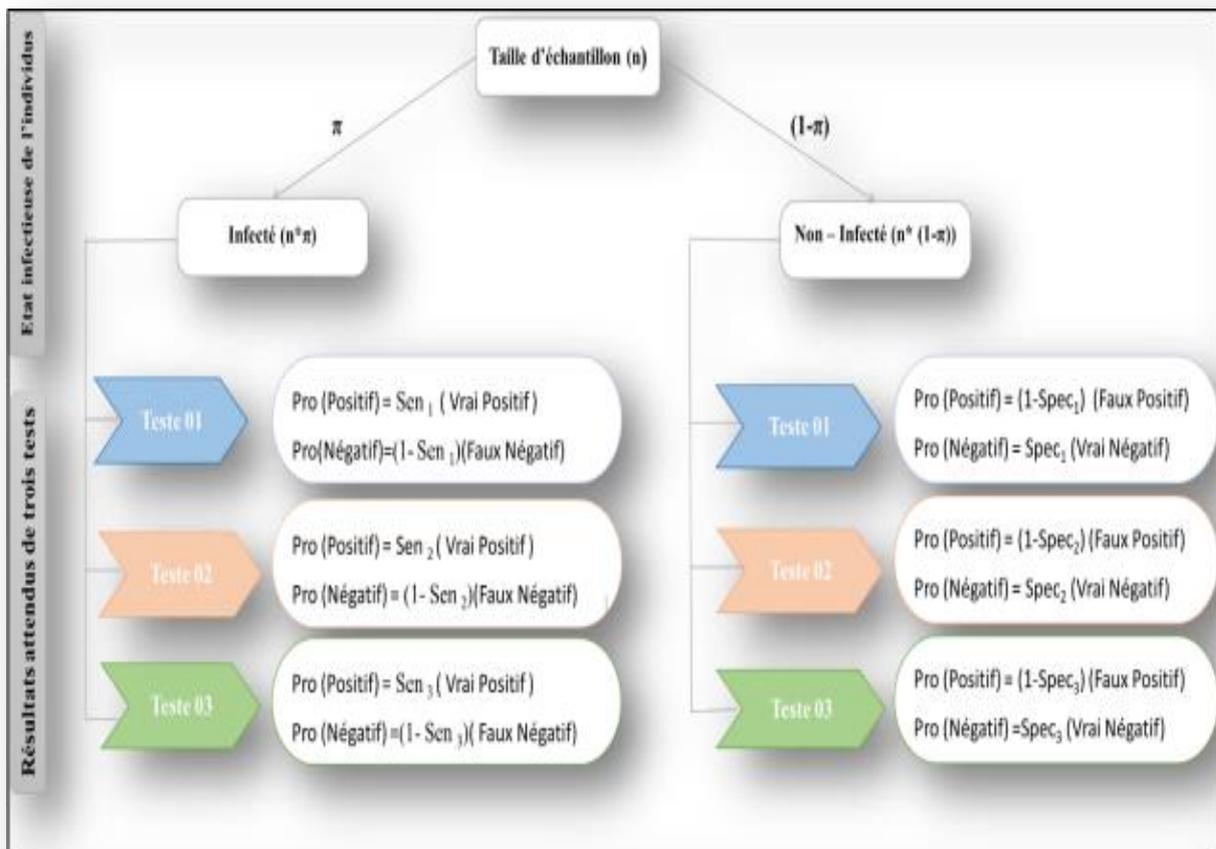


Figure 17 : Les résultats attendus pour les trois tests utilisés

A l’aide de la formule de Bayes (Bayes., 1763), les probabilités de survenue d’un résultat positif ou d’un résultat négatif peuvent être écrites comme des fonctions des caractéristiques intrinsèques du test (Se_1 et Sp_1) et de la prévalence de la maladie au sein du groupe étudié (prev) :

$$P(T_1^+) = P(T_1^+ / M_1^+) + P(T_1^+ / M_1^-) \text{ (vrai positif + faux positif)}$$

$$P(T_1^+) = prev * Se_1 + (1 - prev)(1 - Sp_1)$$

De la même manière, la probabilité d’obtenir un résultat négatif chez un individu est égale à la somme de la probabilité d’obtenir un résultat négatif chez un individu indemne ou « vrai

« faux négatif » $P(T_1^-/M_1^-)$ et de la probabilité d'obtenir un résultat négatif chez un individu infecté « faux négatif » $P(T_1^-/M_1^+)$

$$P(T_1^-) = P(T_1^-/M_1^-) + P(T_1^-/M_1^+)(\text{vrai positif} + \text{faux négatif})$$

$$P(T_1^-) = \text{prev} * Sp_1 + (1 - \text{prev})(1 - Se_1)$$

Les probabilités d'obtenir un résultat positif ou négatif au deuxième et troisième test (T_2 et T_3) sont définies de même manière :

$$P(T_1^+) = \text{prev} * Se_2 + (1 - \text{prev})(1 - Sp_2)$$

$$P(T_2^-) = \text{prev} * Sp_2 + (1 - \text{prev})(1 - Se_2)$$

$$P(T_3^+) = \text{prev} * Se_3 + (1 - \text{prev})(1 - Sp_3)$$

$$P(T_3^-) = \text{prev} * Sp_3 + (1 - \text{prev})(1 - Se_3)$$

Huit profils de diagnostic possibles (attendus) après la combinaison des résultats croisés de trois tests de diagnostic pour plusieurs individus, lesquels :

$$P(T_1^-, T_2^-, T_3^-) = \text{prev} (1 - Se_1)(1 - Se_2)(1 - Se_3) + (1 - \text{prev})Sp_1Sp_2Sp_3$$

$$P(T_1^-, T_2^-, T_3^+) = \text{prev} (1 - Se_1)(1 - Se_2)Se_3 + (1 - \text{prev})Sp_1Sp_2(1 - Sp_3)$$

$$P(T_1^-, T_2^+, T_3^+) = \text{prev} (1 - Se_1)Se_2Se_3 + (1 - \text{prev})Sp_1(1 - Sp_2)(1 - Sp_3)$$

$$P(T_1^-, T_2^+, T_3^-) = \text{prev} (1 - Se_1)Se_2(1 - Se_3) + (1 - \text{prev})Sp_1(1 - Sp_2)Sp_3$$

$$P(T_1^+, T_2^-, T_3^-) = \text{prev} Se_1(1 - Se_2)(1 - Se_3) + (1 - \text{prev})(1 - Sp_1)Sp_2Sp_3$$

$$P(T_1^+, T_2^+, T_3^-) = \text{prev} Se_1Se_2(1 - Se_3) + (1 - \text{prev})(1 - Sp_1)(1 - Sp_2)Sp_3$$

$$P(T_1^+, T_2^-, T_3^+) = \text{prev} Se_1(1 - Se_2)Se_3 + (1 - \text{prev})(1 - Sp_1)Sp_2(1 - Sp_3)$$

$$P(T_1^+, T_2^+, T_3^+) = \text{prev} Se_1Se_2Se_3 + (1 - \text{prev})(1 - Sp_1)(1 - Sp_2)(1 - Sp_3)$$

L'utilisation des programmes de compte (R et Win BUGS) disponibles sur le serveur central de l'application Web (<http://mice.tropmedres.ac>) permet de calculer les sept paramètres de ce modèle multi-facteurs (**Prévalence, Sensibilité et Spécificité de chacun de trois tests**), il permet également le calcul de la valeur prédictive positive (VPP) et de la valeur prédictive négative (VPN) pour chaque test.

1.4.4. Calcul des valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN)

La valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) de chacun de test utilisé, ont été calculés à l'aide des estimations postérieures de la sensibilité (Se), la spécificité (Sp) et de la séroprévalence (pr) :

$$VPP = \frac{Se * pr}{(Sp * pr) + (1 - Sp) * (1 - pr)}$$

$$VPN = \frac{Sp * (1 - pr)}{(Sp * (1 - pr)) + (1 - Se) * pr}$$

1.4.5. Calcul des valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN)

La valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) de chacun de test utilisé, ont été calculés à l'aide des estimations postérieures de la sensibilité (Se), la spécificité (Sp) et de la séroprévalence (pr) :

$$VPP = \frac{Se * pr}{(Sp * pr) + (1 - Sp) * (1 - pr)}$$

$$VPN = \frac{Sp * (1 - pr)}{(Sp * (1 - pr)) + (1 - Se) * pr}$$

2. Résultats

2.1. Taux de séroprévalence apparente

L'analyse des 215 sérums de trois espèces par les trois techniques utilisés a révélés que : 20 sérums (16 d'espèce ovine et 4 d'espèce caprine) ont testés positifs à la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. par le TRBs soit un taux de séroprévalence apparente de **9,30%** (IC95% : 5.42 – 13.18), et 11 sérums ont été testés positifs par les deux autres TRBm et SAW (10 cas d'espèce ovine et un cas d'espèce caprine par le TRBm et 9 cas d'espèce ovine et 2 cas d'espèce caprine par le SAW) (Fig. 18), soit un taux de séroprévalence apparente de **5,12%** (IC 95% : 2.17 – 8.07). la distribution des cas sur les trois espèce :

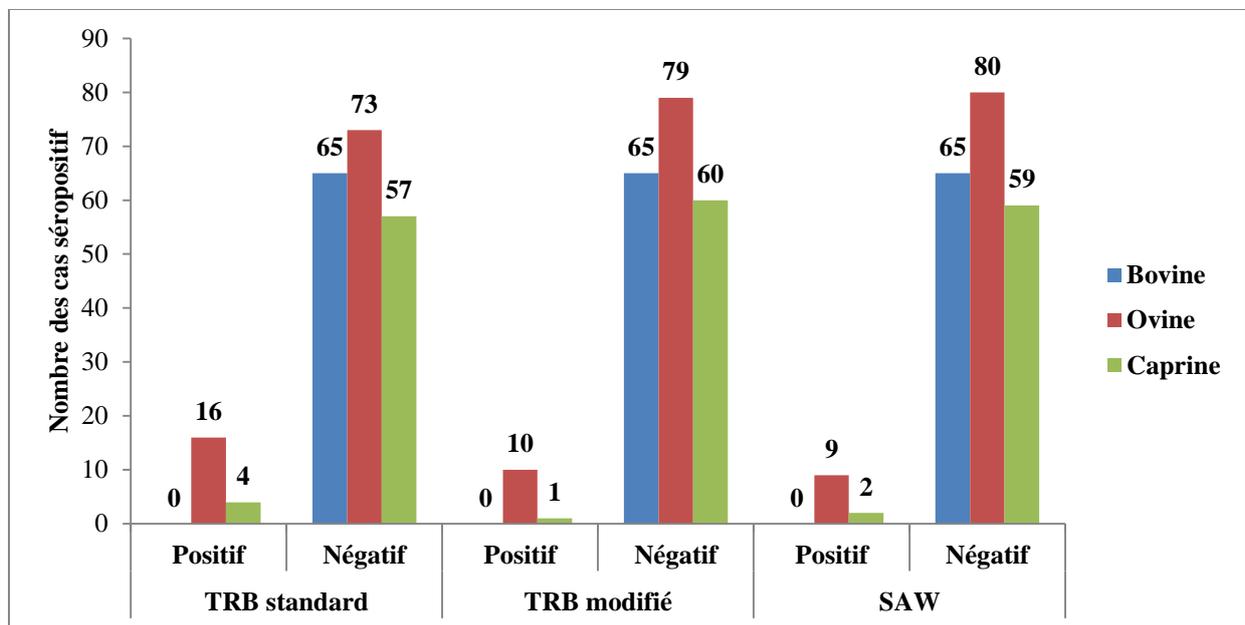


Figure 18 : Taux de séroprévalence apparente

2.2. Résultats de modèle d'analyse des classe latentes

Les trois tests étudiés sont appliqués en parallèle sur les 215 sérums, les résultats sont binaires (Positif/Négatif), dans lequel la prévalence de la maladie est inconnue.

La combinaison des résultats de trois tests utilisés (TRBs , TRBm et SAW) a montré que 7 sérums ont été positifs par les trois tests, 195 sérums ont été négatifs par les trois tests, 4 sérums ont été négatifs par le TRB m et positif par les deux autres (TRBs et SAW), 4 sérums ont été positifs par les deux TRBs et TRBm normal et négatifs par le SAW, 5 sérums ont été négatifs par les deux TRBm et SAW et positifs par le test TRBs (Tab. 9).

Tableau 6: Combinaison des résultats croisés du T-RB nor, T-Wright et T-RB nov

	TRBs	TRBm	SAW	Nombre de sérum présumé positif
	Positif	Positif	Positif	7
	Positif	Positif	Négatif	4
	Positif	Négatif	Positif	4
	Positif	Négatif	Négatif	5
	Négatif	Positif	Positif	0
	Négatif	Positif	Négatif	0
	Négatif	Négatif	Positif	0
	Négatif	Négatif	Négatif	195
Résultats positifs	20	11	11	215
Résultats négatifs	195	204	204	

En utilisant l'application Web (<http://mice.tropmedres.ac>) et en introduisant les résultats croisés de trois tests utilisés (**Tab. 9**), permet de calculer les sept paramètres de ce modèle multinomial (Prévalence réelle, Sensibilité et Spécificité de chacun de trois tests utilisés), elle permet aussi de calculer les Valeur Prédictive Positive (VPP) et les Valeur Prédictive Négative (VPN) de chaque test (**Tab. 10**). Le modèle statistique basé sur le théorème de Bayes, a donné un taux de prévalence réelle de **8,3%** (IC 95% : 4.9 – 12.7). Ainsi, ce modèle présente que le test le plus sensible parmi les trois tests étudiés, est le test de TRBs (Se = 98.4 % ; IC 95% : 84.7 – 100), avec une VPN élevée (VPN =99.9% ; IC 95% : 98.5 – 100). Pour la valeur de spécificité, les deux tests de SAW et TRBm sont les plus spécifiques (Sp = 99.9% ; IC 95% : 98.7 – 100), avec une VPP le plus élevée (VPP = 98.0% ; IC 95% : 79.8 – 100) pour le SAW.

Tableau 7 : Paramètres calculés par le modèle d'analyse de classes latentes par approches bayésiennes

	Paramètres	Tests sérologiques		
		TRBs	TRBm	SAW
MACLAB	Prévalence réelle (%) (IC 95%)	8.3 (4.9 – 12.7)		
	Sensibilité (%) (IC 95%)	98.4 (84.7 – 100)	62.4 (37.4 – 85.0)	62.2 (38.5 – 85.9)
	Spécificité (%) (IC 95%)	98.8 (95.7 – 100)	99.9 (98.7 – 100)	99.9 (98.7 – 100)
	VPP (%) (IC 95%)	87.8 (60.9 – 99.9)	97.9 (78.8 – 100)	98.0 (79.8 – 100)
	VPN (%) (IC 95%)	99.9 (98.5 – 100)	96.8 (93.1 – 99.0)	96.8 (93.1 – 99.0)

2.3. Distribution des résultats selon les facteurs de risque putatifs

A ce stade, nous avons choisi le TRBs pour faire l'étude et l'analyse des facteurs de risque putatifs, car c'est le test le plus sensible d'après les résultats du modèle mathématique (MACLAB).

2.3.1. Distribution des résultats en fonction le facteur d'avortement

Parmi les 215 échantillonnées dans la région d'étude il existe 205 femelle, parmi ces échantillons ou sérums on trouve 25 sérums dont 5 sont révélées positives soit un taux de séropositivité de 2,43%, on trouve aussi 180 sérums de femelle avec pas d'avortement dont 15 sont révélées positives soit un taux de séropositivité de 7,31 %.

Tableau 8: Distribution des cas selon le facteur d'avortement

	Positif	Négatif	Total
Avortement précédent	15	165	180
Pas d'avortement	5	20	25
Total	20	185	205

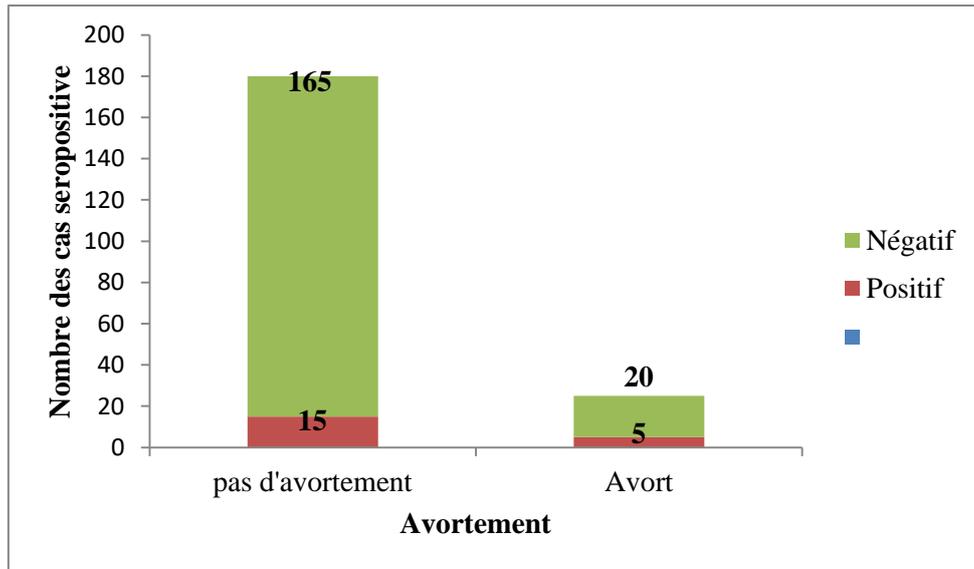


Figure 19: Distribution des cas en fonction de facteur avortement précédent

2.3.1.1. Distribution des résultats selon le facteur de sexe

Parmi les 215 Animaux échantillonnées dans la région d'étude ; 205 sont des femelles, dont 20 se sont révélées positifs, soit un taux de séropositivité de 9,75%. On trouve aussi 10 sérums bélier avec 0 révélées positifs, soit un taux de séropositivité de 0%.

Tableau 9: Distribution des cas selon le facteur sexe

	Positif	Négatif	Total
Femelle	20	185	205
Male	0	10	10
Total	20	195	215

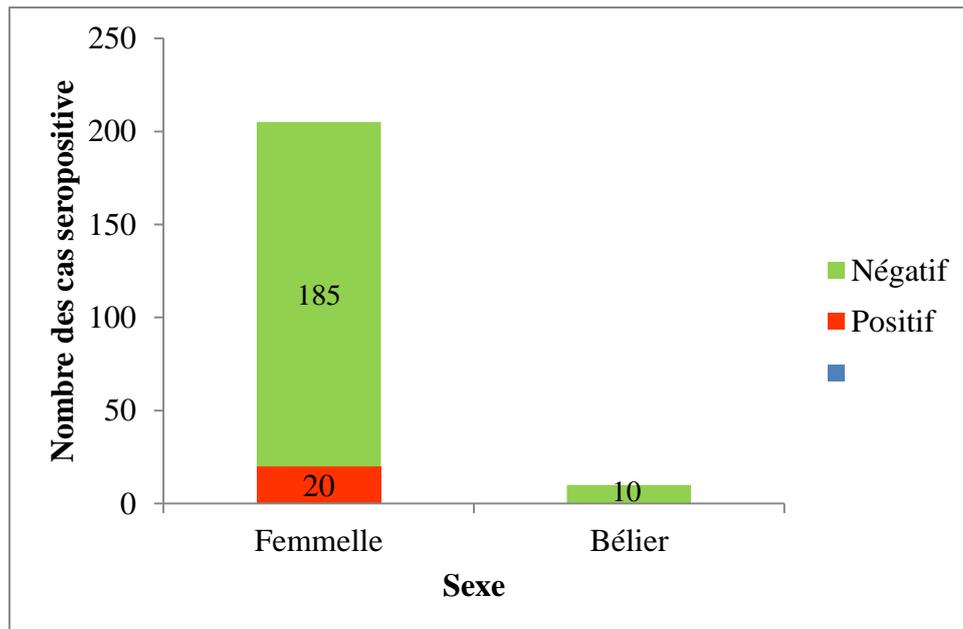


Figure 20 : Distribution des cas selon le sexe

2.3.1.2. Distribution des résultats selon les espèces

Dans notre étude on a travaillé avec 65 sérums ovins, dont ils n'ont pas révélées positifs, soit un taux de séropositivité de 0%. 89 sérums caprine, dont 16 sont pas révélées positifs, soit un taux de séropositivité de 7,44%. Aussi 61 sérums bovine avec taux de séropositivité de 1,86%.

Tableau 10: Distribution des cas selon les espèces

	Positif	Négatif	Total
Ovine	0	65	65
Caprine	16	73	89
Bovine	4	57	61
Total	20	195	215

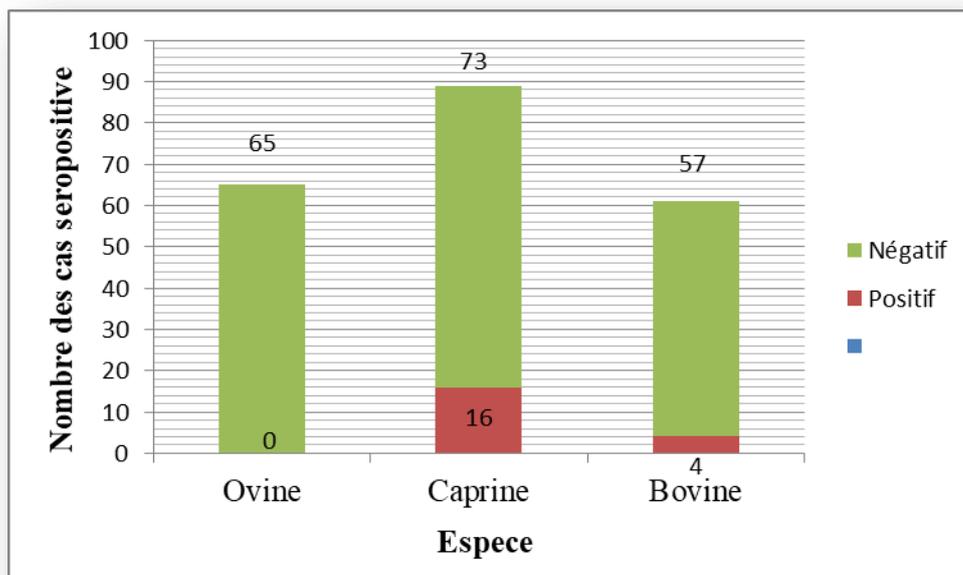


Figure 21: Distribution des cas selon les espèces

2.4. Analyses statistiques

L'analyse univariable a révélé que parmi les trois facteurs de risque putatifs (Espèce, Sexe et Avortement précédents), deux variables (Espèce et Avortement précédent) ont une valeur p inférieure à 0.2 (**Tab. 11**).

Tableau 11 : Résultat d'analyse univariable

Variables	Catégorie	Nombre des cas testés	Nombre des cas positifs (%)	Valeur p
1- Espèce	Bovine	65	0 (0)	0.000
	Caprine	61	4 (6.55)	
	Ovine	89	16 (17.98)	
2- Sexe	Male	10	0 (0)	0.99
	Femelle	140	20 (14.28)	
3- Avortement précédent	Oui	25	5 (25)	0.023 (Exact Fischer)
	Non	115	15 (13.04)	

3. Discussion

Bien qu'il s'agisse d'une maladie zoonotique courante, la brucellose est une maladie zoonotique majeure et hautement contagieuse. Malgré les efforts déployés pour contrôler et éradiquer la maladie, elle est toujours considérée comme l'une des maladies zoonotiques les plus répandues dans le monde (**Kirk et al., 2015**) (**Dean et al., 2012**). Cette étude a porté sur les trois espèces (Bovine ; ovine et caprine), les plus exploitées dans la wilaya de Tébessa ; ils ont considérés comme source potentiel de la contamination humaine par la bactérie *Brucella* spp. Nous voulons d'avoir un nombre plus élevé (notamment pour l'espèce bovine), mais vue de l'indisponibilité des éleveurs et parfois par le manque de confiance de la part des propriétaires dans quelques élevages nous obligent de travailler avec des tailles différentes d'une espèce à autre. Le test que nous avons utilisé pour analyser les sérums était le Rose Bengale (EAT). C'est un test rapide, simple, économique, qualifié spécifique et peu sensible, qui dépend de la situation épidémiologique de la maladie (**Milhaud, 1999**). Le Rose Bengale reste sensible si la brucellose est bien contrôlée, c'est le cas de l'espèce bovine d'où un dépistage systématique effectué chaque six mois avec l'abattage systématique pour les cas confirmer séropositifs, sans implication de campagne de vaccination. En revanche, pour les deux autres espèces (ovine et caprine), l'implication de vaccination conjonctivale par le ministère de l'agriculture et de développement rurale (MADR) depuis 2006 ; rend le test de Rose Bengale peu sensible ou douteux avec difficulté de distinction entre les anticorps d'une souche sauvage à celle vaccinale (**Zundel et al., 1992**) (**Wyatt, 2005**). En a utiliser le test de Rose Bengale à deux dosages différents, (RB normal avec le protocole standard 30µl, et RB nouveau 60µl). Pour évaluer la réactivité des anticorps spécifiques dirigés contre *Brucella* dans le sérum des animaux, et pour améliorer la sensibilité de ce test si était possible puis on fait la comparaison avec le SAW pour déterminer le test le plus précis parmi eux.

3.1. Taux de séroprévalence et distribution des cas positifs

Dans cette étude transversale, nous avons évalué la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. Chez les animaux dans la région de Tébessa, via l'utilisation d'un test rapide d'agglutination (EAT). Un taux de séroprévalence apparente de **8,30 %** a été signalé après l'analyse de 215 sérums des animaux provenant de différente partie de la wilaya de Tébessa. Le taux mentionné dans notre étude est inférieur au taux trouvé par **Hakim et Said., 2019** (7,84%) réalisée sur les mêmes d'espèces, et pour le taux l'utilisation de test de Wright. Ce taux a également supérieur aux résultats des autres études menées dans différentes régions de

l'Algérie ; il est supérieur à celle trouvé par (Takoua et Aya, 2021) (5,32%) dans la wilaya de Tébessa .

En effet, la divergence de résultats des différentes études peut s'expliquer par multiples facteurs : (i) les facteurs liés à la bactérie, les conditions écologiques et climatiques différentes d'une région à autre peuvent influencer la survie et la résistance bactérienne (Akbarmehr, 2011), (ii) les facteurs liés au test de diagnostic/dépistage : la sensibilité et la spécificité des tests de laboratoire peuvent parfois varier entre-tués et intra-test dans la mesure où pour le même test le seuil de positivité (Cut-Off) peut varier d'une étude à une autre (Nielsen, 2002)(Zairi R et al, 2022) (Poester et al., 2014)(Bauriaud et al, 1977)et (iv) les facteurs liés aux études menées: la procédure d'échantillonnage et la taille d'échantillon peuvent être à l'origine de résultats différents (Levieux et al, 1974).

Cette disparité dans les résultats des études régionales attire l'attention sur la difficulté de l'explication de présence et de distribution des cas brucelliques dans la région d'étude et confirme à la fois la nécessité de réalisation des études ultérieures pour bien comprendre la situation réelle de la brucellose animale.

3.2. Evaluation des paramètres de tests utilisés

Dans notre étude, en l'absence de test gold standard ou bien test de référence pour le diagnostic de la brucellose, qui sont les tests bactériologique (culture et isolement bactérien) et moléculaire (PCR), ces deux tests doivent être réalisés dans un laboratoire de biosécurité niveau 3 du fait du caractère zoonotique de ces bactéries (Ducrotoy et al., 2018)(Nielsen et al., 1969)(Des et al., 2008)(Ducrotoy et al., 2016). A cet effet, nous avons opté de combiner les résultats de trois tests dans un modèle statistique d'analyse des classes latentes par approches bayésienne, pour estimer la prévalence réelle et estimer les valeurs d'exactitude de test utilisés (Sensibilité, Spécificité, VPP et VPN) ; ceux-ci nous ont permis d'estimer des indicateurs plus fiables et de quantifier correctement les erreurs de classifications.

D'autre part, il est important d'interpréter nos résultats en fonction de la performance de test EAT (les valeurs intrinsèques : sensibilité et spécificité), ce test comme tous les tests de laboratoires a des avantages et inconvénients qui peuvent influencer le résultat final d'une étude. En effet, Le test EAT est facile à manipuler mais l'interprétation des résultats est opératoire dépendant. Ils impliquent une suspension de *brucella* abortus inactivée. Les suspensions bactériennes s'agglutinent en présence d'anticorps anti – *Brucella* dans le sérum

de sujets infectés (humain ou animal). Cependant, l'observation des agglutinations pourrait être subjective. La lecture et l'interprétation des résultats nécessitent un endroit bien éclairé et un opérateur expérimenté avec une bonne vision surtout lorsque les agglutinations sont moins évidentes. En plus, si le temps de lecture n'est pas respecté, on risque d'avoir un résultat faussé ; un temps de lecture en maximum de 4 minutes pourrait conduire à un résultat faussement positif et diminuerait la sensibilité effective du test.

Cependant, un temps de lecture avant de 4 minutes n'augmente pas la sensibilité du test car il s'agit une technique d'agglutination rapide, puisque 4 minutes suffisent pour obtenir le résultat, à sa commodité s'ajoute une haute spécificité(Nielsen, 2002). Afin de minimiser les erreurs liées à la manœuvre technique, il faut bien respecter la procédure indiquée sur la notice, notamment le temps de lecture en maximum de 4 minutes, et en cas de doute, le résultat doit être revérifié par un deuxième test.

Cependant, certains sérums testés noter que des faux positifs sérologiques, ceux-ci pourraient être dus soit à des réactions non spécifiques dues aux présences des anticorps IgM non spécifiques au genre de *Brucella* (d'origine inconnue), ou bien peuvent être rencontrés en lien avec des réactions antigéniques croisées avec *Brucella* spp. *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* et *Proteus* (Chakroun et al, 2007)(Geisler et al., 2020)(Sibille., 2006a). Les échantillons fortement lipidiques ou hémolytiques peuvent donner aussi des réactions faussées. Les erreurs d'interprétations lors d'une contamination inter-sérient par des échantillons positifs pouvant rester sur la plaque après les tests, sont complètement exclus, lorsqu'on utilise chaque plaque une seule fois.

D'autre part, dans les cas d'où la concentration d'anticorps élevée, le test EAT est un sujet de phénomène de zone ou bien effet prozone ; ceci est défini comme l'invisibilité de l'agglutination à des concentrations élevées d'anticorps. Cela est dû à la raison que l'excès d'anticorps forme des complexes très minuscules qui ne s'agglomèrent pas pour former une agglutination visible. Pour cela, les résultats de test EAT sérologie doivent toujours être observés en fonction des symptômes et les antécédents cliniques (Levieux, 1974). La valeur de sensibilité analytique de test (seuil de détection des réactifs), peuvent aussi influencer le résultat d'analyse sérologique. A noter que le test EAT comme des autres tests rapides ont un seuil de détection plus bas à 25 UI/mL ; alors que, d'autres tests plus performant comme l'ELISA a été standardisé généralement pour détecter un titre d'anticorps correspondant à 10 – 15 UI/mL ou plus (Poester et al., 2014).Ce qui fait que le réactif de EAT ait des valeurs

intrinsèques plus faibles, comparants avec celles d'autres tests ayant un autre seuil de détection.

D'autre part, à partir de notre étude et résultats on a trouvé que : La sensibilité et la spécificité du test de Rose Bengale peuvent être influencées par plusieurs facteurs, y compris le dosage utilisé. Différents dosages peuvent être utilisés pour adapter la sensibilité du test en fonction des besoins spécifiques. Un dosage plus élevé peut être utilisé pour détecter des réactions d'anticorps plus faibles ou pour augmenter la sensibilité du test dans les stades précoces de l'infection. Cependant, un dosage plus élevé peut également augmenter le risque de résultats faussement positifs.

Dans cette étude, nous avons trouvé que le dosage de Rose Bengale à concentration plus élevée pourrait avoir une spécificité plus élevée **99.9 %**. Cependant, il peut également présenter une sensibilité plus faible **62.4%**, ce qui peut entraîner un risque accru de résultats faussement positifs.

3.3. Facteurs de risque

Notre étude a montré qu'il est important de considérer le contexte épidémiologique spécifique, les caractéristiques des échantillons testés et les objectifs du diagnostic lors de travail avec différents dosages de Rose Bengale. Les facteurs tels que la prévalence de la maladie dans la population animale, la sensibilité souhaitée du test et le niveau de tolérance aux faux positifs peuvent influencer le choix du dosage approprié.

Le facteur de dosage entre les deux dosages de Rose Bengale fait référence à la différence de concentration d'antigène entre les dosages utilisés (**Bellamine et al., 2012**). Un facteur de dosage plus élevé indique une concentration plus élevée d'antigène dans le dosage. Ou est-ce l'utilisation d'un dosage plus élevé peut stimuler une réponse immunitaire plus forte et entraîner une production accrue d'anticorps. Cela peut être bénéfique pour détecter les cas positifs de brucellose, en particulier dans les stades précoces de l'infection (**Denis et al., 2022**).

En ce qui concerne la vaccination, il est important de prendre en compte les antécédents de vaccination des animaux lors de l'interprétation des résultats du test de Rose Bengale. Les animaux vaccinés peuvent présenter une réactivité positive dans le test en raison de la présence d'anticorps induits par la vaccination. Une réactivité persistante peut également être observée chez les animaux guéris de l'infection. La connaissance des antécédents de

vaccination permet de différencier les réponses dues à la vaccination des infections actives, contribuant ainsi à une interprétation plus précise des résultats du test.

Donc , Il convient de noter que les résultats des tests de Rose Bengale doivent être interprétés en tenant compte de plusieurs facteurs, et une confirmation ultérieure avec des tests plus spécifiques est souvent recommandée pour une évaluation complète de l'infection par *Brucella* chez les animaux (**Micro-clinique, 2022**).

3.4. Les avantages et les Inconvénients potentiels de l'utilisation des tests d'étude

Le test de Rose Bengale et le test de Wright ne sont pas les tests de choix pour le diagnostic et la détection de la brucellose animale. La brucellose animale est généralement diagnostiquée à l'aide de tests spécifiques tels que l'agglutination lente sur plaque (PLA), le test de fixation du complément (CFT) et la réaction en chaîne par polymérase (PCR) (**Eurofins, 2010**).

Cependant, si nous examinons les avantages et les inconvénients potentiels de l'utilisation du test de Rose Bengale et du test de Wright pour la brucellose animale, voici quelques points à considérer :

Avantages potentiels de l'utilisation du test de Rose Bengale :

- 1. Simplicité :** Le test de Rose Bengale est relativement simple à réaliser et ne nécessite pas d'équipement de laboratoire sophistiqué.
- 2. Rapidité :** Le test de Rose Bengale peut donner des résultats rapidement, généralement en quelques minutes.
- 3. Coût :** Le test de Rose Bengale peut être plus abordable en termes de coût par rapport à certains autres tests de diagnostic plus complexes.

Inconvénients potentiels de l'utilisation du test de Rose Bengale

- 1. Sensibilité limitée :** Le test de Rose Bengale peut présenter une sensibilité relativement faible, ce qui signifie qu'il peut donner des résultats faussement négatifs chez certains animaux infectés.
- 2. Spécificité limitée :** Le test de Rose Bengale peut également manquer de spécificité, ce qui signifie qu'il peut donner des résultats faussement positifs en présence d'autres infections ou dans des situations de croisement d'anticorps.

Avantages potentiels de l'utilisation du test de Wright :

1. Sensibilité relativement élevée : Le test de Wright peut détecter la présence d'anticorps chez les animaux infectés par *Brucella*, offrant ainsi une sensibilité relativement élevée.

2. Évaluation quantitative : Le test de Wright permet de réaliser des dilutions séquentielles du sérum, ce qui permet une évaluation quantitative des titres d'anticorps.

Inconvénients potentiels de l'utilisation du test de Wright :

1. Spécificité limitée : Le test de Wright peut donner des réactions croisées avec d'autres infections bactériennes, ce qui peut conduire à des résultats faussement positifs.

2. Complexité : La réalisation du test de Wright nécessite une technique de laboratoire plus avancée et peut prendre plus de temps par rapport à certains autres tests de diagnostic.

Il est important de noter que pour le diagnostic précis de la brucellose animale, des tests spécifiques tels que le PLA, le CFT et la PCR sont généralement recommandés. Ces tests offrent une meilleure sensibilité et spécificité, ce qui permet une détection plus précise de l'infection par *Brucella*.

Conclusion

La brucellose est une zoonose causée par les bactéries du genre *Brucella*. C'est une maladie à déclaration obligatoire. Etant conscients de risque que représente la brucellose sur le plan Socio-économique et ces répercussions négatives par des pertes économiques insupportables surtout dans les pays en voie de développement.

Notre étude a examiné l'importance de l'utilisation d'un protocole modifié de test de Rose Bengale dans le diagnostic de la brucellose chez les ruminants. Nous avons souligné l'importance de la spécificité de ce protocole modifié.

L'utilisation de réactifs de haute qualité et une interprétation correcte des résultats sont essentielles pour minimiser les faux positifs et les faux négatifs. La confirmation des résultats positifs avec des tests plus spécifiques, tels que le test Wright, la culture bactérienne ou les tests de PCR, permet de différencier les vrais positifs des faux positifs et d'éviter les erreurs de diagnostic.

L'interprétation des résultats du test doit également prendre en compte les antécédents médicaux et de vaccination des animaux, car la vaccination peut induire une réactivité positive dans le test Rose Bengale.

La sélection du dosage approprié de Rose Bengale dépendra des objectifs spécifiques du test, du contexte épidémiologique et des caractéristiques des échantillons à tester. Un dosage avec une sensibilité plus élevée peut être préférable pour détecter les infections précoces, tandis qu'un dosage avec une spécificité plus élevée peut être choisi pour réduire les faux positifs. En mettant en œuvre ces mesures, les professionnels de la santé animale peuvent améliorer la fiabilité du diagnostic de la brucellose, prendre des décisions de gestion appropriées et mettre en place des mesures de contrôle efficaces pour prévenir la propagation de la maladie.

Cependant, il convient de noter que des recherches supplémentaires et des études comparatives sont nécessaires pour évaluer plus précisément l'efficacité des différents dosages de Rose Bengale et leur impact sur la détection des bactéries responsables de la brucellose.



Références

Références bibliographiques

- **Acha et al, 2003**, « Zoonoses and communicable Disease common to man and animal »,.
- **Achref, 2020**, « BRUCELLOSE HUMAINE: ACTUALITES DIAGNOSTIQUES ET THERAPEUTIQUES. »,.
- **Aggad H., 2003**, « Serological studies of animal brucellosis in Algeria, . Assiut veterinary medical journal », p. 121-130.
- **Akakpo et al, 1987**, « [Epidémiologie des brucelloses animales en Afrique tropicale _ enquêtes clinique, sérologique et bactériologique] - PubMed »,.
- **Akinci E., Bodur H., Çevik M.A., Erbay A., Eren S.S., Ziraman I., Balaban N., Atan A., Ergül G., 2006**, « A complication of brucellosis: Epididymoorchitis », *International Journal of Infectious Diseases*, 10, 2, p. 171-177.
- **Allan et al, 1976**, « A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for bovine brucellosis to different antibody classes », 19.
- **Ardin-Delteil, 1926**, *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie...*, Thèse de doctorat.
- **Audic S., Lescot M., Claverie J.M., Cloeckart A., Zygmunt M.S., 2011**, « The genome sequence of *Brucella pinnipedialis* B2/94 sheds light on the evolutionary history of the genus *Brucella* », *BMC evolutionary biology*, 11, 1.
- **Banai M., Corbel M., 2010**, « Taxonomy of *Brucella* », p. 85-101.
- **Bauriaud et al, 1977**, « Diagnostic sérologique de la typhoïde de l'éléphant, étude comparative des tests classiques et d'un test rapide (Rose Bengale)* », p. 323-327.
- **Bellamine K., Riyad M., Takourt B., Farouqi B., Fellah H., 2012**, « Diagnostic Biologique De La Brucellose Humaine: Comparaison De Deux Techniques De Seroagglutination Laboratory Diagnosis of Human Brucellosis: Comparison of Two Techniques of Serum Agglutination », *Les technologies de laboratoire*, 7, 29, p. 29.
- **Bendali F., 2008**, « Maladies des Bovins &- Google Livres »,.
- **Benelmouffok, 1970**, « Aperçu sur la situation actuelle de la brucellose bovine en Algérie », p. 120-126.
- **Benkirane A., 2001**, « Surveillance épidémiologique et prophylaxie de la brucellose des ruminants : L'exemple de la région Afrique du nord et proche-orient », *OIE Revue Scientifique et Technique*, 20, 3, p. 757-767.
- **Berkvens D., Speybroeck N., Praet N., Adel A., Lesaffre E., 2006**, « Estimating

- disease prevalence in a Bayesian framework using probabilistic constraints », *Epidemiology*, 17, 2, p. 145-153.
- **BiO-RAD, 2014**, « Brucella Rose Bengale », p. 1-4.
 - **Bodelet V., 2002**, « Brucellose et grossesse: revue de la littérature à propos d' un cas », p. non renseigné.
 - **Bouhraoua Chahla et all, 2021**, « ETUDE STATISTIQUE RETROSPECTIVE SUR L'évolution de LA BruCeLLose Au niVeAu de LA wiLAYA d'ouM eLbouaghi durant la dernière décennie », d'Oum El boighi.
 - **Boukary A.R., Saegerman C., Abatih E., Fretin D., Bada R.A., Deken R. De, Harouna H.A., Yenikoye A., Thys E., 2013**, « Seroprevalence and potential risk factors for Brucella Spp. infection in traditional cattle, sheep and goats reared in urban, periurban and rural areas of Niger », *PLoS ONE*, 8, 12, p. 1-12.
 - **Bricker B.J., Ewalt D.R., MacMillan A.P., Foster G., Brew S., 2000**, « Molecular characterization of Brucella strains isolated from marine mammals », *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 3, p. 1258-1262.
 - **Bricker et al, 1994**, « Differentiation of Brucella abortus »,.
 - **C. Debeaumont et all, 2005**, « Real-time PCR for detection of Brucella spp. DNA in human serum samples », *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24, 12, p. 842-845.
 - **Chakroun M., Bouzouaia N., 2007**, « La brucellose : une zoonose toujours d ' actualité . Brucellosis : a topical zoonosis. », *Rev Tun Infectiol*, 1, 2, p. 1-10.
 - **Cherif et al, 1986**, « Consommation de fromage de chèvre et brucellose humaine à Ghardaia (Algérie) »,.
 - **Cheung A., Dufour S., Jones G., Kostoulas P., Stevenson M.A., Singanallur N.B., Firestone S.M., 2021**, « Bayesian latent class analysis when the reference test is imperfect », *OIE Revue Scientifique et Technique*, 40, 1, p. 271-286.
 - **Clara, 2014**, « Contrôle et modulation de la réponse immunitaire par Brucella abortus »,.
 - **Corbel M.J., 1972**, « Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis »,.
 - **Crapletc, 1973**, « La vache laitière_ reproduction, génétique, alimentation, habitat, grandes »,.
 - **Dean A.S., Crump L., Greter H., Schelling E., Zinsstag J., 2012**, « Global Burden

of Human Brucellosis: A Systematic Review of Disease Frequency », *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6, 10.

- **Denis J., Mura M., Trignol A., Tournier J.-N., 2022**, « L'exploration de l'immunogénicité vaccinale », *Revue Francophone des Laboratoires*, 2022, 540, p. 40-52.
- **DJEDOUANI Hakim, SI SAID Nabila, 2019**, « Étude de la séroprévalence de l'infection à *Brucella* spp. chez l'espèce: ovine, caprine et bovine dans la région de Tébessa », Tébessa.
- **Ducrotoy M.J., Muñoz P.M., Conde-Álvarez R., Blasco J.M., Moriyón I., 2018**, « A systematic review of current immunological tests for the diagnosis of cattle brucellosis », *Preventive Veterinary Medicine*, 151, p. 57-72.
- **E Weight B.A., 1897**, « ON THE APPLICATION OF THE SERUM TEST TO THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF TYPHOID AND MALTA FEVER, AND ON THE FURTHER APPLICATION OF THE METHOD OF SERUM DIAGNOSIS TO THE ELUCIDATION OF CERTAIN PROBLEMS IN CONNEXION WITH THE DURATION OF IMMUNITY AND THE GEOGR ».
- **ELSAN, s. d.**, « Brucellose : Définition - Glossaire médical | Elsan ».
- **ERLB, 2021**, « Brucellosis Rose Bengal Test Standard Operating Procedure », July, p. 1-7.
- **Eurofins, 2010**, « Brucellose - sérologie - sérum », *PCR et ARN 16S*.
- **Eurofins Biomnis, 2018**, « BRUCELLA », 2018.
- **Fensterbank R., 1987**, « Some aspects of experimental bovine brucellosis. », *Annales de recherches vétérinaires. Annals of veterinary research*, 18, 4, p. 421-428.
- **Foster G., Osterman B.S., Godfroid J., Jacques I., Cloeckert A., 2007**, « *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts _ Microbiology Society », *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 11, p. 2693.
- **Freny et al 2000** *Précis de bactériologie clinique (January 1, 2000 edition) _ Open Library*, Paris, ESKA, 1420 p.
- **Freycon et al, 2015**, « Rôle du bouquetin *Capra ibex* dans épidémiologie de la brucellose à *Brucella melitensis* en Haute-Savoie »,.
- **Gabli A., Agabou A., Gabli Z., 2015**, « Brucellosis in nomadic pastoralists and their goats in two provinces of the eastern Algerian high plateaus », October 2013.

- **Ganiere, 2004**, « La brucellose animale », Août.
- **Garin, 1993**, « Brucelloses bovine, ovine et caprine_ contrôle et prévention _ Semantic Scholar »,.
- **Geisler M., Delhomme C., Letournel H., Bucy L., Poussing S., Guichard J.F., Campagne J., Vernier N., Maurier F., Revuz S., 2020**, « Qui veut la peau de Roger Rabbit ? », *La Revue de Médecine Interne*, 41, p. A177-A178.
- **Gilles Bourdeau, 1997**, « Les formes atypiques de la brucellose »,.
- **Godfroid et al, 2002**, « Comment justifier l'éradication de la brucellose bovine lorsque des réactions sérologiques aspécifiques surviennent au cours des tests de brucellose. *Microbiologie vétérinaire* »,.
- **Godfroid et al, 2003**, « Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century - PubMed »,.
- **Godfroid J., Garin-Bastuji B., Saegerman C., Blasco J.M., 2013**, « Brucellosis in terrestrial wildlife », *OIE Revue Scientifique et Technique*, 32, 1, p. 27-42.
- **Godfroid J., Scholz H.C., Barbier T., Nicolas C., Wattiau P., Fretin D., Whatmore A.M., Cloeckart A., Blasco J.M., Moriyon I., Saegerman C., Muma J.B., Dahouk S. Al, Neubauer H., Letesson J., 2011**, « Brucellosis at the animal / ecosystem / human interface at the beginning of the 21st century », *Preventive Veterinary Medicine*, 102, 2, p. 118-131.
- **GUTIERREZ et al, 2006**, « Point sur les risques lies a la presence de brucella »,.
- **Houari D, 2020**, « Facteurs de risque liés à la Brucellose humaine et bovine dans la région de la Kabylie ».
- **Houdinière, 1945**, « Le rôle du lait dans la transmission des brucelloses. », 25, 547, p. 232-241.
- **Idrissi et al El, 2001**, « Comparison of the efficacy of Brucella abortus strain RB51 and Brucella melitensis Rev »,.
- **J A., 2011**, « The prevalence of Brucella abortus and Brucella melitensis in local cheese produced in Sarab city, Iran and its public health implication », *African Journal of Microbiology Research*, 5, 12, p. 1500-1503.
- **Janbon F., Maurin M., 2005**, « Diagnostic direct-C ulture ».
- **Kardjadj M., 2020**, « The Epidemiology of Human and Animal Brucellosis in Algeria », May 2016.
- **Khezzani B., Narimane Aouachria A., Khechekhouche E.A., Djaballah S., Djedidi**

- T., **Bosilkovski M., 2021**, « Caractéristiques épidémiologiques de la brucellose humaine dans la province d'El-Oued, sud-est algérien », *Santé Publique*, Vol. 33, 2, p. 275-284.
- **Kirk M.D., Pires S.M., Black R.E., Caipo M., Crump J.A., Devleeschauwer B., Döpfer D., Fazil A., Fischer-Walker C.L., Hald T., Hall A.J., Keddy K.H., Lake R.J., Lanata C.F., Torgerson P.R., Havelaar A.H., Angulo F.J., 2015**, « World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis », *PLoS Medicine*, 12, 12, p. 1-21.
 - **Kouamo et al, 2014**, « La brucellose en Afrique subsaharienne », p. 39-56.
 - **l'autorité mondiale en matière de santé animale., 2023**, « Brucellose - OMSA - Organisation mondiale de la santé animale »,.
 - **Laboratories B.-R., 2014**, « Brucella Wright », *BiO-RAD saw*, p. 2-5.
 - **Larry M.Bush, Marie T.Vazquez-Pertejo, 2022**, « Infections à Campylobacter et infections similaires - Maladies infectieuses - Édition professionnelle du Manuel MSD »,.
 - **Lefèvre, 2003**, « Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et Régions chaudes, par Pierre Charles Lefevre, Jean Blancou et René Chermette, Coordonateurs Éditions Tec & Doc-EM Inter (2003) », *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 158, 1, p. 77-77.
 - **Levieux D., 1974**, « IMMUNOGLOBULINES BOVINES ET BRUCELLOSE. II. ACTIVITE DES IgG1, IgG2 ET IgM DU SERUM DANS LES REACTIONS D'AGGLUTINATION, DE COOMBS, DE FIXATION DU COMPLEMENT ET DANS LE TEST AU ROSE BENGAL », *Annales de Recherches Veterinaires*, 5, 3, p. 343-353.
 - **Lounes N., 2009**, « Historique du dépistage et brucellose bovine en Algérie prophylaxie de », 1, December, p. 5-8.
 - **Lounes N et all, 2014**, « Human brucellosis in Maghreb: Existence of a lineage related to socio-historical connections with Europe », *PLoS ONE*, 9, 12, p. 1-14.
 - **Lounes N., Melzer F., Sayour A.E., Maamar H.T., Rahal K., Benamrouche N., Lazri M., Bouyoucef A., Hendam A., Neubauer H., El-Adawy H., 2021**, « Identification, geographic distribution and risk factors of Brucella abortus and Brucella melitensis infection in cattle in Algeria », *Veterinary Microbiology*, 254,

January, p. 109004.

- **Lutz M.B., Schuler G., 2002**, « Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: Which signals induce tolerance or immunity? », *Trends in Immunology*, 23, 9, p. 445-449.
- **Mangen Otte J., Pfeiffer D., Chilonda, P. M.-J., 2002**, « Bovine brucellosis in sub-saharan Africa: estimation of Seroprevalence and impact on meat and milk offtake potential. \tQ Livestock Policy Discussion Paper No 8. Food and Agricultural Organisation FAO. Livestock Information and Policy Branch. AGAL. Decembre », 8, p. 53pp (<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/ag27>).
- **Matthieu, 2016**, « Prophylaxie de la brucellose humaine : vers une vaccination ciblée de la faune sauvage ? Étude du cas des bouquetins du massif du Bargy To cite this version : HAL Id : dumas-01331098 »,.
- **Maurin M., 2005a**, « La brucellose à l' aube du 21e siècle », p. 16.
- **Maurin M., 2005b**, « Brucellosis at the dawn of the 21st century », *Medecine et Maladies Infectieuses*, 35, 1, p. 6-16.
- **Maurin M et all, 2005**, « La brucellose à l' aube du 21e siècle », *Médecine et maladies infectieuses*, 35, p. 6-16.
- **Memish Z.A., Balkhy H.H., 2004**, « Brucellosis and International Travel », *Journal of Travel Medicine*, 11, 1, p. 49-55.
- **Memoire De Master E.I.S.M.V.), Sante E.N., Veterinaire P., 2014**, « Evaluation de trois tests de dépistage de la brucellose bovine pour une aide décisionnelle de contrôle de la maladie dans le bassin laitier de Niamey (Niger) ».
- **Micro-clinique, 2022**, « Card test _ Rose Bengale »,.
- **Milhaud C.L., 1999**, « Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux : Point de vue vétérinaire », *Revue Francaise des Laboratoires*, 1999, 310, p. 77-94.
- **Mohamed, 2016**, « L ' infectiologie de la brucellose chez les bovins laitiers et son effet sur la fertilité »,.
- **Mollaret H.-H., 2023**, « BRUCELLOSE ou MÉLITOCOCCIE ou FIÈVRE DE MALTE - Encyclopædia Universalis »,.
- **Molto, 2010**, « Les maladies réglementées chez les primates ».
- **Mora- S., Republic C., Scholz C., Aggataccgc- A., Dna T., 2008**, « Isolation of *Brucella microti* from Soil Plasmodium falciparum in Ancient Egypt », 14, 8, p. 7-9.

- **Moreno et al, 2002**, « Brucella evolution and taxonomy », *Veterinary Microbiology*, 90, 1-4, p. 209-227.
- **Nielsen, 2002**, « Diagnosis of brucellosis by serology - ScienceDirect »,.
- **Nielsen et al., 1969**, « Serological diagnosis of brucellosis », *New Zealand Veterinary Journal*, 17, 7, p. 126-129.
- **OIE, 2005**, « Outil de l'OIE pour l'évaluation des performances des Services vétérinaires (Outil PVS de l'OIE) », p. 70.
- **OIE, 2018**, « Office International des Épizooties »,.
- **OMS, 2004**, « Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals »,.
- **OMS, 2020a**, « Prévention , détection et prise en charge des infections chez les agents de santé dans le contexte de la COVID-19 », p. 1-15.
- **OMS, 2020b**, « Brucellose », *II AOUI*.
- **OMS Z., 2020c**, « Zoonoses »,.
- **ONUAA, 2023**, « Santé publique vétérinaire _ La santé animale _ Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture »,.
- **Pierre A et all, 2022**, « Brucellose »,.
- **Plommet et al, 1973**, « BRUCELLOSE BOVINE EXPÉRIMENTALE »,.
- **Poester F.P., Nielsen K., Samartino L.E., Yu W.L., 2014**, « Diagnosis of Brucellosis », p. 46-60.
- **Queipo-ortun A.I., Morata P., Oco P., 1997**, « Rapid Diagnosis of Human Brucellosis by Peripheral-Blood PCR Assay », 35, 11, p. 2927-2930.
- **Radojicic S., 2005**, « Brucellosis: Epizootiologic and diagnostic challenge », *Veterinarski glasnik*, 59, 1-2, p. 79-87.
- **RADOSTITS et al, 2000**, « Brucellosis caused bay Brucella abortus »,.
- **Rajashekara G., Glasner J.D., Glover D.A., Splitter G.A., 2004**, « Comparative whole-genome hybridization reveals genomic islands in Brucella species », *Journal of bacteriology*, 186, 15, p. 5040-5051.
- **Roux, 1979**, « Epidémiologie et prévention de la brucellose »,.
- **ROUX et al, 1989**, « Bactériologie médicale »,.
- **Scholz H.C., Nöckler K., Llner C.G., Bahn P., Vergnaud G., Tomaso H., Dahouk S. Al, Kämpfer P., Cloeckert A., Maquart M., Zygmunt M.S., Whatmore A.M., Pfeiffer M., Huber B., Busse H.J., De B.K., 2010**, « Brucella inopinata sp. nov., isolated from a breast implant infection », *International journal of systematic and*

- evolutionary microbiology*, 60, Pt 4, p. 801-808.
- **Shy njla et al, 2005**, « serological survey of bovine brucellosis in cameroon »,.
 - **Sibille.C.M., 2006a**, « Contribution à l ' étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l ' Arkhangai (Mongolie) », p. 1-149.
 - **Sibille.C.M., 2006b**, « Contribution à l ' étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l ' Arkhangai (Mongolie) », p. 1-149.
 - **SKENDROS, 2013**, « Immunity to brucellosis »,.
 - **Takoua et Aya, 2021**, « Utilisation de la technique de séro – agglutination de Wright pour dépister les anti corps anti – Brucella spp . chez l ' espèce ovine dans la region de Tébessa »,.
 - **Torr S., 2019**, « David Bruce - EcuRed Tsetse.org », *Tsetse.org*.
 - **Verger, 1993**, « Brucelloses bovine, ovine et caprine_ contrôle et prévention - Dialnet »,.
 - **Verger M.A., 1987**, « L ' art d ' estimer l ' art Comment classer l ' incomparable ? », 66, p. 105-121.
 - **Walker et al, 2002**, « Pathogenicity and protective activity in pregnant goats of a Brucella melitensis δ omp25 deletion mutant », *Research in Veterinary Science*, 72, 3, p. 235-239.
 - **WOAH, 2022**, « Terrestrial Animal Health Code 2022 Chapter 3.1.4. – Brucellosis (infection with Brucella abortus, B. melitensis and B. suis) », p. 1-48.
 - **Wyatt H. V., 2005**, « How Themistocles Zammit found Malta Fever (brucellosis) to be transmitted by the milk of goats », *Journal of the Royal Society of Medicine*, 98, 10, p. 451-454.
 - **Yahiaoui et Said, 2015**, « Etude rétrospective de la brucellose humain dans les dairat berrouaghia et theniet el had »,.
 - **Yahiatene Imene, Danoun khadidja, 2020**, « Etude bibliographique de la brucellose animale et humaine en Algérie », p. 1-53.
 - **Yanagi M., Yamasato K., 1993**, « Phylogenetic analysis of the family Rhizobiaceae and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and DNA sequencer », *FEMS Microbiology Letters*, 107, 1, p. 115-120.
 - **Zairi R et all, 2022**, « Utilisation de test de l ' épreuve de l ' antigène tamponné (EAT) pour détecter les anticorps anti - Brucella spp . chez l ' Homme dans la région de Tébessa », Tébessa.

- **Zinsstag et al, 2003**, « Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: Case study », *Bulletin of the World Health Organization*, 81, 12, p. 867-876.
- **Zundel E., Verger J.M., Grayon M., Michel R., 1992**, « Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with Brucella melitensis Rev 1 vaccine: Safety and serological responses », *Annales de Recherches Veterinaires*, 23, 2, p. 177-188.1988, « Techniques for the brucellosis laboratory »,.