



REPUBLIQUE ALGERIEN DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Chahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des 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 :

Etude de l'exactitude de test de Rose Bengale utilisé dans le diagnostic de brucellose chez l'Homme dans la région de Tébessa.

Présenté par :

M^{elle} BRADJI Manel

M^{elle} BOUCHAGOURA Nesrine

Devant le jury :

M.SOLTANI Nedjemedine

MCA

Président

Université de Tébessa

M.BENAICHA Brahim

MCB

Examineur

Université de Tébessa

M.BENLAKEHAL Amar

MAA

Promoteur

Université de Tébessa

Date de soutenance : 04 Juin 2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ملخص

الحمى المالطية هي مرض حيواني المنشأ ينتقل بسهولة إلى البشر، مع معدل انتشار مرتفع في جميع أنحاء العالم، وخاصة في دول البحر الأبيض المتوسط. لها تأثير صحي واقتصادي كبير. وبالتالي، نظرًا للحساسية المنخفضة للفحص السريري، فإن الفحوصات المخبرية (المباشرة أو غير المباشرة) ضرورية. إلا أن أوجه القصور في الحساسية والنوعية تتطلب تقييم أداء لهذه الاختبارات المخبرية. على هذا الأساس، أجرينا دراسة مقطعية في ولاية تبسة بين أبريل 2023 حتى مايو 2023؛ لتقدير الانتشار المصلي للأجسام المضادة لـ *Brucella spp.* عند 124 شخصًا كانوا متواجدين في مختلف المؤسسات الصحية للولاية، لتقييم دقة بروتوكول معدل لإختبار Rose Bengal وهذا من خلال الجمع بين نتائج اختبارين مصليين (إختبار Rose Bengal مع بروتوكولين مختلفين، ثابت ومعدل، وإختبار التراص المصلي الخاص بـ Wright) في نموذج تحليل رياضي باستخدام نظرية بايز؛ وأيضًا لتقييم ارتباط إحصائي محتمل بين الإيجابية المصلية الفردية مع بعض عوامل الخطر المفترضة.

أظهرت نتائج التحاليل المصلية التي تم الحصول عليها بواسطة بروتوكولي TRB (الثابت و المعدل) توافقًا تامًا، مع معدل إنتشار مصل ظاهر فردي يقدر بـ 55.65% (95% CI: 46.90 - 64.39). من ناحية أخرى، فإن معدل الإنتشار المصلي الظاهر بإختبار Wright هو 31.45% (95% CI: 28.86 - 49.13). أعطى نموذج التحليل الرياضي الصنف الكامن بطريقة بايز معدل انتشار مصلي فردي حقيقي بنسبة 55.7% (مجال الموثوقية 95%: 46.9 - 64.2). أظهر نموذج الانحدار اللوجستي متعدد المتغيرات أن التواجد المتغير للعلامات السريرية كان مرتبطًا بشكل كبير بالإيجابية المصلية الفردية (OR = 151.263؛ 95% CI: 29.207 - 783.386؛ p = 0.000). تشير الدراسة الحالية إلى أن TRBm يعطي نفس أداء البروتوكول القياسي. ومع ذلك، ينبغي إجراء دراسات أخرى أكثر قوة لتقييم أداء الاختبارات التشخيصية الأخرى.

الكلمات المفتاحية: داء البروسيلاء. البرسيلا. تبسة. إختبار رايت. إختبار روز بنجال.

Résumé

La brucellose est une zoonose qui se transmet très facilement à l'homme, avec un taux de prévalence élevé dans le monde, notamment dans les pays méditerranéens. Elle a un impact significatif sur le plan sanitaire et économique. Ainsi, vue de faible sensibilité de l'examen clinique les examens de laboratoire (direct ou indirect) s'impose. Néanmoins, les défauts de sensibilité et de spécificité nécessitent une évaluation des performances de ces tests. Sur cette base, nous avons mené une étude transversale dans la wilaya de Tébessa entre Avril 2023 jusqu'à Mai 2023 ; pour estimer la séroprévalence des anticorps anti- *Brucella* spp. chez 124 personnes présentant dans des établissements de santé, pour évaluer les performances d'un protocole modifié de test de Rose Bengale via la combinaison des résultats de deux tests sérologiques (test de Rose Bengale avec deux protocoles différents, standard et modifié, et le test de séro-agglutination de Wright) dans un modèle d'analyse des classes latentes par approche bayésienne ; aussi pour évaluer une éventuelle association statistique entre la séropositivité individuelle avec certains facteurs de risque putatifs.

Les résultats d'analyses sérologiques obtenus par les deux protocoles du TRB ont présentés un accord parfait, avec un taux de séropositivité individuelle apparente de 55.65% (IC 95% : 46.90 – 64.39). Par contre, le taux de séropositivité apparente par le test de Wright est de 31.45% (IC 95% : 28.86 – 49.13). Le modèle d'analyse de classes latentes par approche bayésienne a donné un taux de séroprévalence individuelle réelle de 55.7% (IC 95% : 46.9 – 64.2). Le modèle de régression logistique multivariable a montré que la variables présence des signes cliniques a été associé significativement avec la séropositivité individuelle (OR=151.263 ; IC 95% : 29.207 – 783.386 ; p= 0.000). La présente étude rapporte que le TRBm donne les mêmes performances que le protocole standard. Néanmoins, d'autres études plus puissantes, devraient être menées pour évaluer les performances des autres tests de diagnostic.

Mots clés: Brucellose, *Brucella* spp., Test de Wright, Test de Rose Bengal, Tébessa.

Abstract

Brucellosis is a zoonosis that's very easily transmitted to humans, with a high prevalence rate worldwide, particularly in Mediterranean countries. It has a significant health and economic impact. Thus, given the low sensitivity of the clinical examination, laboratory examinations (direct or indirect) impose. Nevertheless, the shortcomings in sensitivity and specificity require an evaluation of the performance of these tests. On this basis, we conducted a cross-sectional study in the wilaya of Tébessa between April 2023 until May 2023; to estimate the seroprevalence of antibodies anti-*Brucella* spp. in 124 people presenting in health establishments, to evaluate the performance of a modified Rose Bengal test protocol, via the combination of the results of two serological tests (Rose Bengal test with two different protocols, standard and modified, and the test Wright sero-agglutination) in a latent class analysis model using a Bayesian approach; also to assess a possible statistical association between individual seropositivity with some putative risk factors.

The results of serological analyzes obtained by the two TRB protocols showed perfect agreement, with an apparent individual seropositivity rate of 55.65% (95% CI: 46.90 – 64.39). On the other hand, the rate of apparent seropositivity by the Wright test is 31.45% (95% CI: 28.86 – 49.13). The latent class analysis model by Bayesian approach gave a real individual seroprevalence rate of 55.7% (95% CI: 46.9 – 64.2). The multivariable logistic regression model showed that the variable presence of clinical signs was significantly associated with individual seropositivity (OR=151.263; 95% CI: 29.207 – 783.386; p= 0.000). The present study reports that the TRBm gives the same performance as the standard protocol. Nevertheless, other more powerful studies should be conducted to assess the performance of other diagnostic tests.

Key words: Brucellosis, *Brucella* spp., Wright test, Rose Bengal test, Tébessa.

Remerciements

A la fin de ce travail, nous remercierons Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné le courage, l'envie et la patience de mener à bien ce travail.

*J'ai l'honneur et le plaisir d'exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à notre encadrant **M. BENLAKEHAL Amar**, pour son aide précieuse, ses conseils et le temps qu'il m'a accordé pour ma supervision. Nous tenons également à remercier le jury de nous avoir donné le privilège de juger notre travail et de nous mettre en*
sécurité.

Aux membres du jury :

Président : SOLTANI Nedjemedine

Examineur : BENAICHA Brahim

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

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire pour la confiance et les conseils qu'ils ont pu m'accorder au cours de cette étude.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

DEDICACE

Je dédie ce travail a :

Mes parents merci pour vos bénédictions ; vos doux et précieux conseils m'ont toujours aidé dans ma vie. Il n'y a pas de mots exacts pour exprimer ce que je ressens pour vous. Ils ont été là pour moi dans les moments difficiles, me fournissant une épaule sur laquelle pleurer et les conseils dont j'avais besoin pour rester sur la bonne voie.

Ma sœur « Zahwa » a été une source constante de motivation tout au long de mon parcours.

Dès le premier jour où j'ai décidé de poursuivre mon rêve, elle était ici à côté de moi, m'encourageant à continuer et à ne jamais abandonner. J'ai toujours pu compter sur lui pour ses conseils et son soutien. Elle m'a appris la valeur du travail acharné et du dévouement, et même quand j'avais envie d'abandonner

Mon beau-frère « Dr. Guechi Fahed » qui a assumé le rôle du père plus que frère, je n'oublierais jamais ton encouragement et je te souhaite tout le meilleur et le succès dans ta vie.

Mon frère « Riad » : pour nos fous rires, pour les liens solides qui nous unissent, je ne saurais exprimer les sentiments d'attachement que j'ai pour toi. Je te souhaite beaucoup de bonheur et de courage dans ta vie.

A mes frères « Samir » « Fayçal », et mes belles sœurs « Amina » « Hana » et « Nardjes » : Que Dieu vous accorde santé, succès et félicité pour faire de vous des couples unis et heureux à jamais.

A mes chères nièces « Hadil », « Assil », « Djouri », « Rahaf et Rafif » et mes neveux « Abdo » « Wassim » « Raid » et « Fadi » : que Dieu les protège et les bénisse.

A mes amis : "Dhikra", "Rima", "Maram", "Ferial" et "Nadia" : je ne trouve pas les mots justes et sincères pour t'exprimer mon amour et mes pensées, vous êtes les sœurs et amies en qui je peux avoir confiance. En témoignage de l'amitié qui nous lie et des souvenirs de tous les moments passés ensemble, je vous laisse ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Manel

DEDICACE

Je dédie mon travail :

À *mes parents* « Mounir » et « Samira », merci à vous de m'avoir aidé à poursuivre ce moment tant attendu. Merci pour votre soutien et votre affection et surtout de me faire confiance, avec tout mon amour pour vous.

Priez dieu de vous protéger

À *mes frères* « Mohamed Amine » et « Abed el-mouâz », je vous remercie pour votre grand soutien moral et vos encouragements toujours.

Que dieu vous accorde le succès et le bonheur

Je te dédie ce travail, qui n'aurait pas pu être achevé sans vous.

À *mes amis*, merci pour tous les beaux souvenirs, la force et le soutien moral.

Je vous souhaite une vie heureuse

À *ma famille et toutes les personnes* qui m'ont aidé ou encouragé au long de mes études.

Je vous aime tous et merci beaucoup

Nesrine

Liste des tableaux

Tableau 1: Brucella : espèces et biovars, caractéristiques épidémiologiques, hôte animal préférentiel, pouvoir pathogène chez l’homme (**PHILIPPON et GARIN-BASTUJI., 2005**) 18

Tableau 2: Caractéristiques des génomes de B. ovis, B. suis, B. abortus et B. melitensis 20

Tableau 3 : Effecteurs de la réponse humorale contre la brucellose. (BOUFERKAS Yasmina and FELLATI Abdellah., 2018)..... 28

Tableau 5 : Activité des principaux antibiotiques 34

Tableau 4 : Principaux antibiotiques prescrits au cours de la brucellose..... 34

Tableau 6: Distribution des cas selon La commune..... 51

Tableau 7: Combinaison des résultats croisée du Test Wright, Test RB (protocole standard) et Test RB (notre essai) 52

Tableau 8: Paramètres calculés par le modèle d’analyse de classes latentes par approches bayésiennes..... 53

Tableau 9: Distribution des cas selon le sexe..... 53

Tableau 10: Distribution des cas selon le milieu d'habitation..... 54

Tableau 11: Distribution des cas selon l’âge..... 54

Tableau 12: Distribution des cas selon le traitement 54

Tableau 13: Distribution des cas selon la présence des signes cliniques 55

Tableau 14: Résultats d'analyse univariable par le test khi-deux..... 57

Tableau 15: Résultats de modèle de régression logistique multiple 58

Liste des figures

Figure 1: David Bruce	16
Figure 2 : Dispersion des espèces de Brucella face à la phylogénie de leur hôte de prédilection.....	17
Figure 3: Brucella vu au microscope optique	19
Figure 4: Représentation circulaire des chromosomes de Brucella melitensis 16M (adapté de patricsbrc.org) Légende : de l'intérieur vers l'extérieur : G-C%, facteur de virulence, non-CDS, CDS rev, CDS fwd, chromosomes, échelle (Mbp)	20
Figure 5: Incidence mondiale de la brucellose.....	21
Figure 6: Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre Brucella. (GUERNINE et al. 2020).....	27
Figure 7: Observation microscopique de Brucella après coloration de Stamp (Source : Véronique Guérin-Faublée, Vetagro Sup).....	29
Figure 8: Le test de séroagglutination en tube (test Wright).....	31
Figure 9: Test de Rose Bengal (personnelle)	31
Figure 10: Le test de fixation du complément (AFNOR., 2009).....	32
Figure 11: Principe de la Technique immuno-enzymatique (ELISA)(Sahraoui et al., 2022).....	32
Figure 12 : Carte représentative de la localisation géographique et l'organisation administrative de la wilaya de Tébessa.....	38
Figure 13: Sang prélevé et centrifugé dans des tubes sec (réelle)	39
Figure 14: Kit de Rose Bengale	41
Figure 15: Réactif de Wright.....	42
Figure 16: Etapes de méthode qualitative	43
Figure 17: Résultat après 4 minutes d'agitation.....	44
Figure 18: Formation d'une agglutination après 1 min d'agitation d'un échantillon infecté ...	45
Figure 19: Titrage de test de Wright	46
Figure 20: Résultats attendus pour les trois testes utilisés	48
Figure 21 : Taux de séroprévalence apparente par le TRB (A) et SAW (B)	51
Figure 22 : Distribution des résultats selon les facteurs d risque étudiés.....	56

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

APC : Cellule présentatrice d'antigène

ARN : Acide Ribonucléique

B : *Brucella*.

C : Cytosine

CD4+ : Cluster de différenciation 4
(lymphocytes T)

CD8+ : Cluster de différenciation 8

CMI : Concentrations Minimales
Inhibitrices

CRP : La protéine C réactive

EAT : : Épreuve à l'antigène tamponné

ELISA: Enzyme-Linked-immunosorbent-
assay

RB: Rose Bengal

RFC : réaction de fixation du complément

RFLP : Restriction fragment
length polymorphism

R-LPS : Lipopolysaccharide Rugueux

S-LPS : Lipopolysaccharide Lisse

SNP : Polymorphisme nucléotidique
simple

spp : Plusieurs espèces

SAW : Séroagglutination lente de Wight

TCR: T-Cell Receptor

Th1: Des cytokines T helper de type 1

TLR: Toll-like receptor

UI : Unité internationale

Va : Variable en fonction des espèces
antibiotique

VS : La vitesse de sédimentation

UV : Ultraviolette,

IgM : Immunoglobuline M

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IF : Réaction d'immunofluorescence

IFN : Interférons

IM/IV : Intramusculaire / Intraveineux

OMS : Organisation mondiale de santé

PCR : Polymerase by chainreaction

UV : Ultra Violette

INTRODUCTION

La brucellose est la zoonose infectieuse la plus répandue dans le monde (Kefi et al., 2015). Elle menace la santé humaine et animale. L'agent causal de la brucellose est un groupe de bactéries appartenant au genre *Brucella*. Les études récentes ont montré qu'il existe douze espèces de *Brucella* reconnues, dont neuf affectent des animaux terrestres (Whatmore et al., 2016). Bien que la brucellose humaine puisse être due à l'infection par plusieurs espèces de la *brucella*, l'espèce *B. melitensis* est la plus incriminée chez l'être humain (Enkelmann et al., 2020). C'est une maladie à déclaration obligatoire dans la plupart des pays, la lutte contre cette zoonose est une priorité absolue pour les gouvernements et les décideurs des pays développés. En effet, cette maladie a un impact significatif qui est aggravé par le fait qu'elles affectent les deux considérations sanitaires et économiques. Chez l'Homme, les symptômes de la brucellose sont généralement non spécifiques et comprennent une forte fièvre, des sueurs nocturnes et des douleurs articulaires. Comme il s'agit d'une infection systémique, les caractéristiques cliniques et de laboratoire de la brucellose ont tendance à varier (Plumb et al., 2013).

En Algérie, la brucellose sévit depuis le début du 19^{ème} siècle, elle est à déclaration obligatoire, et en démo-épidémique, touchant essentiellement (82% des cas) les zones rurales d'élevage d'animaux domestiques notamment : Laghouat, Biskra, Tébessa, Tiaret, Djelfa, M'sila et Khenchela. Le nombre de cas humains reste important autour de 7000 cas par an c'est ainsi que l'Algérie est classée dixième mondiale en matière d'incidence annuelle (Pappas et al., 2006). Elle présente aussi une grande importance économique : La réforme et l'abattage sanitaire des animaux atteints induisant la diminution de la production laitière, ainsi que les avortements et les naissances des nouveau-nés non viables. De ce fait le diagnostic et la prophylaxie en matière de brucellose ne devra pas être négligée (Bouhraoua et al., 2021).

Le diagnostic de laboratoire est indispensable face à la faible spécificité du diagnostic clinique ; il existe deux types de diagnostic, direct (Polymérase chaîne réaction « PCR » et le diagnostic bactériologique) et indirect (diagnostic sérologique). Le Diagnostic indirect repose sur la détection ou l'augmentation du titre des anticorps spécifiques ; les tests de diagnostic indirect utilisés dans le diagnostic de la brucellose sont nombreuses, les plus utilisés sont : Sérodiagnostic de Wright (SW), ELISA et Réaction à l'antigène tamponnée ou test de Rose Bengale (TRB) ; ce dernier reste un test peu coûteux et applicable sur un grand échelle, basé sur une réaction simple, rapide, sensible et spécifique d'agglutination sur lame en milieu acide tamponné (Plumb et al., 2013). Cependant, ce test peut parfois donner des résultats faux négatifs (Karsen et al., 2011).

INTRODUCTION

Pour améliorer la sensibilité du TRB une modification simple consiste à augmenter le volume de sérums à tester a été recommandé (Blasco et al., 1994a) (Blasco et al., 1994b). Ce protocole (TRBm) augmente significativement la sensibilité de la procédure standard RB et réduit considérablement le problème des résultats faussement négatifs (Ferreira et al., 2003).

Les objectifs de cette étude sont :

- ✓ Evaluation de l'exactitude du protocole modifié du test de Rose Bengale (TRBm) ; en estimant les paramètres intrinsèques (Sensibilité et Spécificité) et extrinsèques (Valeur Prédictives Positive et Négative), via l'utilisation d'un modèle mathématique et les résultats du TRB standard et test séro- agglutination de Wright (SAW).
- ✓ Estimer la séroprévalence des anticorps anti – *Brucella* spp. chez l'Homme dans la région de Tébessa.
- ✓ Étudier les facteurs de risque potentiellement associés avec la séropositivité individuelle.

Table de matières

Thème	1
ملخص 3	
Résumé	4
Abstract	5
Remerciements	6
DEDICACE.....	7
Liste des tableaux	9
Liste des figures	10
Liste des abréviations.....	11
INTRODUCTION.....	12
Table de matières.....	14

Rappel bibliographique

1. Définition :	15
2. Etiologie.....	15
2.1. Historique.....	16
2.2. Phylogénie du parasite	16
2.3. Structure de la <i>Brucella</i>	18
2.4. Aspect génétique.....	19
3. Epidémiologie :	20
3.1. Espèces réceptives	22
3.2. Mode de contamination :	22
3.3. Facteurs de risques.....	23
3.4. Prévalence	23
3.5. Impact économique et sanitaire	24
3.5.1. Impacts économiques	24
3.5.2. Impacts sanitaires.....	24
4. Etude clinique	24
4.1. Brucellose aiguë.....	25
4.2. Brucellose suraiguë ou focalisée.....	25
4.3. Brucellose chronique.....	25
5. Immunité.....	25
5.1. Réponse immunitaire innée	26
5.2. Réponse immunitaire adaptative	26
5.3. Réponse humorale	26

Sommaire

6. Diagnostique	28
6.1. Diagnostique direct	28
6.1.1. Bactérioscopie	28
6.1.2. Culture.....	29
6.1.3 PCR.....	29
6.2. Tests immuno-sérologiques	30
6.2.1. Sérologie de Wright.....	30
6.2.2. Réaction du rose Bengale ou épreuve à l'antigène tamponné (EAT)	31
6.2.3. Réaction de fixation du complément.....	31
6.2.4. Technique ELISA (Enzyme Linked-Immunosorbent Assay).....	32
6.2.5. Immunofluorescence indirecte (IFI)	33
6.2.6. Intradermoréaction à la mélitine	33
7. Traitement.....	33
7.1. Traitement curatif.....	33
7.2. Traitement Préventif.....	35
8. Prophylaxie	35
8.1. Prophylaxie sanitaire	35
8.1.1. Défensive.....	36
8.1.2. Offensive ou mesures d'assainissement	36

Partie expérimentale

1. Matériels et méthodes	37
1.1. Présentation de la région d'étude	37
1.1.1. Situation géographique	37
1.1.2. Climat	37
1.1.2.1. Etage bioclimatique	37
1.2. Conception d'étude	39
1.4. Population d'étude	39
1.5. Méthode sérologique	40
1.5.1. Test de Rose Bengale	40
1.5.1.1. Description, principe et caractéristiques	40
1.5.1.2. Réactifs	40
1.5.2. Test de Séro - Agglutination de Wright	41
1.5.2.1. Description, principe et caractéristique	41
1.5.2.2. Réactif.....	41
1.5.3. Autres matériels et réactifs	42

Sommaire

1.6. Protocole opératoire standard du TRB	42
1.6.1. Protocole standard du TRB	42
1.6.2. Protocole modifié du TRB (TRBm)	44
1.6.3. Lecture et interprétation.....	44
1.6.4. Protocole opératoire du SAW.....	45
1.6.4.1. Méthode qualitative.....	45
1.6.4.2 Méthode semi-quantitative	45
1.7. Organisation, présentation graphique et analyse des données	46
1.7.1. Calcul de taux de prévalence apparente et l'intervalle de confiance.....	47
1.7.2. Analyse statistique pour les facteurs de risques	47
1.7.3. Estimation de prévalence réelle, paramètres intrinsèques et paramètres extrinsèques de test utilisé.....	47
1.7.3.1. Calcul des valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN).....	50
2. Résultats	50
2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente	50
2.2. Résultats de modèle d'analyse des classe latentes	51
2.3. Distribution des résultats selon les facteurs de risque putatifs	53
2.3.1. Distribution des cas selon le sexe.....	53
2.3.2. Distribution des cas selon le milieu d'habitation	53
2.3.3. Distribution des cas selon l'âge	54
2.3.4. Distribution des cas selon le traitement.....	54
2.4. Analyse statistique	57
3. Discussion.....	59
Conclusion	61
Références bibliographiques	62

Rappel
bibliographique

Chapitre :

Les infections par *Brucella* spp.

1. Définition :

La brucellose est une maladie bactérienne causée par des bactéries du genre *Brucella*. La plupart des cas sont dus à *Brucella melitensis*. Elle infecte principalement les bovins, les porcs, les chèvres, les moutons et les chiens mais aussi les humains. Très contagieuse, elle présente des risques pour la santé humaine. C'est une maladie à déclaration obligatoire dans la plupart des pays. L'incidence de la brucellose est particulièrement importante dans les pays pauvres. (Brucellose : Définition-Glossaire médical |Elsan.)

La bactérie est très résistante en milieu extérieur. Les humains se contaminent via des contacts directs avec des animaux infectés (sécrétions génitales, litière) ou via la consommation de lait (fromages frais, produits laitiers). Les fromages de brebis ou de chèvre non pasteurisés sont à l'origine de la majorité des cas humains de brucellose. La transmission interhumaine est rare. (Brucellose : Définition-Glossaire médical |Elsan.)

La brucellose a longtemps porté des noms divers variables selon les pays, les époques et les animaux concernés : fièvre de malte, fièvre méditerranéenne (chez l'homme), avortement épizootique (animaux), maladie de Bang (*bovins*) et épididymite contagieuse du bélier (*ovins*) (ANSES 2014a)

2. Etiologie

La brucellose est une zoonose, maladie infectieuse et contagieuse chez les animaux sensibles. Elle est due aux bactéries du genre *Brucella* et peut toucher la plupart des espèces de mammifères domestiques ou sauvages, les ruminants notamment. La maladie, identifiée, semble-t-il, dès l'antiquité, a porté des noms divers selon les pays, les époques ou l'espèce animale concernée : fièvre de Malte, fièvre ondulante (chez l'Homme), fièvre méditerranéenne, mélitococcie, avortement épizootique des bovidés, etc.

Chez l'animal, la brucellose se traduit par des avortements chez la femelle, par des *orchio-épididymites* chez le mâle, et plus rarement par des arthrites ou des hygromas dans les deux sexes. Les pertes économiques directes de la brucellose sont liées à l'avortement (perte du produit), aux pertes en lait et aux stérilités induites.

Mais l'enjeu économique majeur est lié à l'impossibilité réglementaire pour les animaux de circuler ou d'être utilisés pour la reproduction, s'ils ne sont pas issus de troupeaux qualifiés indemnes de brucellose, tant en France qu'au plan européen ou international.

Chez l'Homme, qui se contamine au contact d'animaux infectés ou en consommant des produits laitiers crus, la maladie se traduit par un syndrome fébrile plus ou moins intense qui peut évoluer vers une forme chronique pouvant induire de sérieuses complications, ostéoarticulaires notamment. (ANSES., 2011)

2.1. Historique

La brucellose a été caractérisée comme entité nosologique, au XIXe siècle, par des médecins militaires anglais installés sur l'île de Malte. D'autres souches similaires sont ensuite isolées chez des dauphins, mais également chez d'autres mammifères marins, tel que des phoques ou des marsouins. Ainsi, la première description clinique fiable de la brucellose est attribuée à Allen Jeffrey Marston en 1859, et l'agent causal (nommé initialement *Micrococcus melitensis*) de cette maladie est isolé en 1886 par David Bruce, à partir de taux de militaires décédés de cette maladie à Malte. (Maurin., 2005)



Figure 1: David Bruce

En Algérie. Plusieurs travaux de recherche furent entrepris de 1911 à 1956 confirmant la présence de la brucellose à l'Ouest (Oran), au Centre (Alger), à l'Est (Constantine) et même au Sud (Hoggar). (BOUHRAOUA et al., 2021)

2.2. Phylogénie du parasite

Brucella appartient au groupe alpha du phylum *Proteobacteria*, qui appartient à la famille des *Rhizobiaceae*. Les espèces bactériennes phylogénétiquement les plus proches sont les *Bartonella*, autres bactéries responsables de zoonoses, les bactéries environnementales, rarement isolées chez l'homme (*Ochrobactrum anthropi*, *Afipia*, *Bosea*) et les bactéries pathogènes ou symbiotes végétaux (*Rhizobium*, *Agrobacterium*).

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

Taxonomiquement, le genre *Brucella* était autrefois divisé en six espèces, elles-mêmes divisées en variétés biologiques, en fonction de la spécificité relative de l'hôte animal naturel. Selon cette ancienne classification, des noms d'espèces ont été proposés pour distinguer les souches isolées de mammifères marins : *B. maris* regroupant tous les isolats de mammifères marins, puis les plus récents *B. cetaceae* (espèce isolée de dauphins) et *B. pinnipediae* (une espèce isolée de pinnipèdes dont les phoques, les lions de mer et les morses).

Des études basées sur l'hybridation ADN/ADN ou sur la séquence du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S ont montré que les *Brucella* spp. sont bien monospécifiques. Les espèces plus anciennes qui infectent les mammifères terrestres, ainsi que celles décrites plus récemment chez les mammifères marins, appartiennent à une seule espèce avec le nom proposé de *Brucella melis*. L'ancienne espèce est réduite à une sous-espèce. (Maurin.,2005)

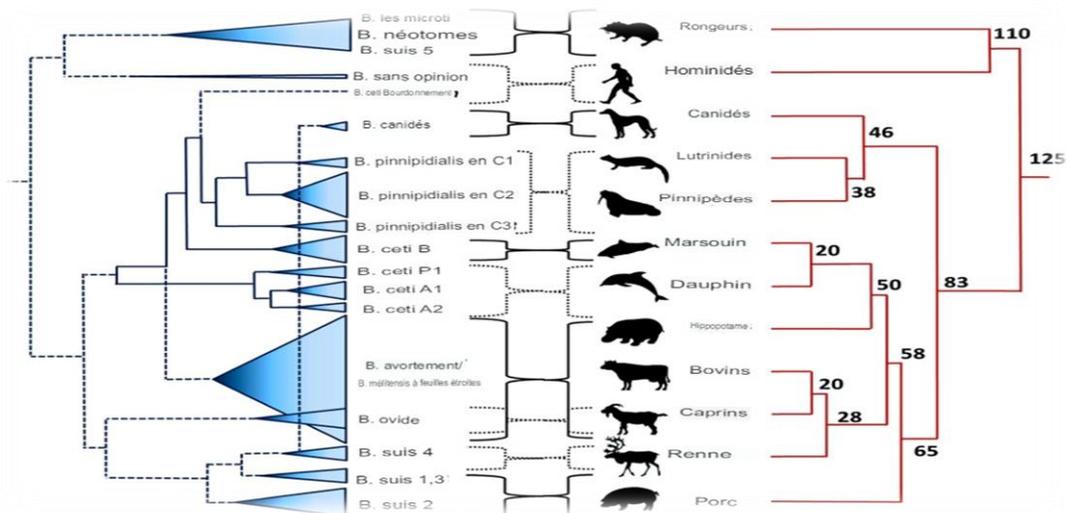


Figure 2 : Dispersion des espèces de *Brucella* face à la phylogénie de leur hôte de prédilection

Selon l'OIE (2011), la brucellose affecte les bovins, ovins et caprins, les chevaux, les chameaux, les chiens et les porcs. Elle affecte également d'autres ruminants, certains mammifères marins et l'homme. Selon PEBRET (2003), les bovins sont le principal hôte de *Brucella abortus*, affectant occasionnellement d'autres ruminants domestiques (buffle, zébu, bison, ovin et caprin, renne, etc.) et des animaux sauvages (cerf, antilope, etc.), des porcs, chevaux, carnivores, rongeurs et humains (essentiellement zoonotiques).

Notez que la brucellose bovine peut également être causée par une infection du bétail par *Brucella* ou par *Brucella suis* (Ben Gaid et Ben Krid., 2021).

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

Tableau 1: *Brucella* : espèces et biovars, caractéristiques épidémiologiques, hôte animal préférentiel, pouvoir pathogène chez l'homme (PHILIPPON et GARIN-BASTUJI., 2005)

Espèce	Biovars	Répartition géographique principale	Hôte animal habituel	Pathogénicité Chez l'homme
<i>B. abortus</i>	1 à 6. Et 9	Ubiquitaire	Bovins. Ongulés sauvages	Modérée
<i>B. melitensis</i>	1 à 3	Bassin méditerranéen, moyen orient	Ovins, caprins, ongulés sauvages	Forte
<i>B. suis</i>	1 et 3	Amérique, Asie, Océanie Europe centrale et occidentale Amérique du Nord, Russie Russie	Suidés	Forte
<i>B. suis</i>	2		Suidés et lièvres	Faible
<i>B. suis</i>	4		Rennes	Modérée
<i>B. suis</i>	5		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)	Rats du désert	Non connue
<i>B. cetaceae</i>		Non connue	Cétacés (dauphins)	Non connue
<i>B. pinnipediae</i>		Non connue	Pinnipèdes (phoques, otaries)	Non connue ^b

2.3. Structure de la *Brucella*

Les brucelles sont des *coccobacilles* gram négatifs (barres courtes) mesurant environ 0,6 à 1,5 µm par 0,5 à 0,7 µm. Ils sont non traceurs et manquent de capsules ou de flagelles et, par conséquent, ne sont pas moteurs. La membrane cellulaire extérieure ressemble étroitement à celle d'autres bacilles gram négatives avec une composante lipopolysaccharide dominante (LPS) et trois groupes principaux de protéines. La teneur en guanine-plus-cytosine de l'ADN est de 55 à 58 mol/cm. Aucune espèce de *Brucella* n'a été trouvée pour abriter les plasmides naturellement bien qu'ils acceptent facilement les plasmides à large gamme d'hôte.

Le métabolisme des brucelles est principalement oxydatif et ils montrent peu d'action sur les glucides dans les médias conventionnels. Ils sont aérobies, mais certaines espèces nécessitent une atmosphère avec du CO₂ ajouté. (5-10 percent). La multiplication est lente à la température optimale de 37 °C et un milieu enrichi est nécessaire pour soutenir une croissance adéquate.

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

Les colonies de brucelles deviennent visibles sur des supports solides appropriés en 2-3 jours. Les colonies de souches lisses sont petites, rondes et convexes mais la dissociation, avec la perte des chaînes O du LPS, se produit facilement pour former des variantes rugueuses ou mucoïdes. Ces dernières formes sont naturelles dans *B. canis* et *B. ovis* car les LPS de ces chaînes O manquent. (Olsen et Bricker 1996)



Figure 3: Brucella vu au microscope optique

2.4. Aspect génétique

Le génome de *Brucella* est réparti sur deux chromosomes circulaires, un gros chromosome de 2,1 Mb et un petit chromosome de 1,2 Mb (sauf pour *B. suis* biovar 3 qui ne possède qu'un seul chromosome de 3,2 Mb). Le génome entier contient environ 3200 séquences codantes. Les génomes de *B. melitensis*, *B. suis* et *B. abortus* ont été les premiers à être séquencés, confirmant que les espèces sont très proches. Par exemple, les génomes de *B. melitensis* et de *B. suis* ne diffèrent que par 74 gènes (42 uniques à *B. suis* et 32 uniques à *B. melitensis*). La principale différence entre les génomes de *B. melitensis* et de *B. abortus* est la présence d'un locus de 25 kb chez *B. melitensis*. Ce locus semble être impliqué dans la synthèse des polysaccharides. (Mariam Traore., 2018)

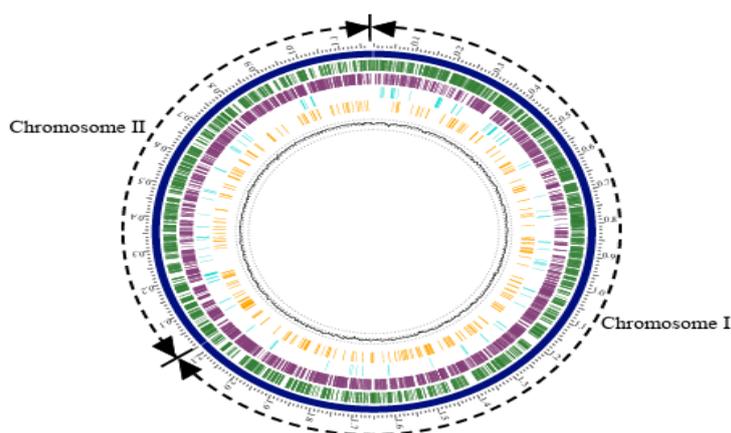


Figure 4: Représentation circulaire des chromosomes de *Brucella melitensis* 16M (adapté de patricsbrc.org) Légende : de l'intérieur vers l'extérieur : G-C%, facteur de virulence, non-CDS, CDS rev, CDS fwd, chromosomes, échelle (Mbp)

Tableau 2: Caractéristiques des génomes de *B. ovis*, *B. suis*, *B. abortus* et *B. melitensis* (D'après (Tsolis et al., 2009))

	<i>B. ovis</i> ATCC 25840		<i>B. suis</i> 1330		<i>B. abortus</i> 2308		<i>B. melitensis</i> 16M	
	Chr I	ChrII	Chr I	ChrII	Chr I	ChrII	Chr I	ChrII
Taille (pb)	2111370	1164220	2107792	1207381	2121359	1156950	2117144	1177787
GC %	57,2	57,2	57,2	57,3	57,2	57,3	57,2	57,3
Nb gènes codant des protéines	1928	962	2123	1149	2000	1034	2090	1075
Nb opérons ARNr	2	1	2	1	2	1	2	1
Nb ARNt	39	14	41	14	41	14	40	14
Nb de pseudogènes (%)	119 (5,8)	125 (11,5)	61 (2,8)	1 (0,1)	186 (8,5)	130 (11,2)	83 (3,8)	80 (6,9)
Nb d'IS711	25	13	5	2	5	2	5	2

3. Epidémiologie :

La brucellose est devenue un problème mondial en raison de sa large répartition géographique et du grand nombre d'espèces animales (ruminants, porcs, carnivores, rongeurs, etc.) qui peuvent être naturellement infectées. L'incidence et la prévalence de la brucellose varient selon les pays. La prévalence de la maladie aux États-Unis est estimée entre 4 et 10 %.

En Afrique, des traces sérologiques ont été retrouvées dans plusieurs pays sauf l'Afrique du Sud. La répartition des principales espèces de *Brucella* et de leurs biotypes n'est pas strictement liée à des zones géographiques bien définies. Dans la plupart des régions du monde, on trouve les trois espèces (*aborina*, *mouton*, *porc*). Cependant, certaines caractéristiques principales peuvent être identifiées.

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

Brucella abortus biotype 3 est la souche la plus courante en Afrique subsaharienne et a été isolée dans plusieurs pays dont le Sénégal, la Côte d'Ivoire, le Niger, le Cameroun, le Togo, le Tchad, le Rwanda, le Kenya et l'Ouganda. Au Mali, les travaux ont permis d'isoler quatre souches de *B. abortus* sans biotypes définis. Ainsi, *B. abortus* est nettement dominant en Afrique (hors Afrique du Nord). En Europe, *B. abortus* est également dominant, à l'exception de la région méditerranéenne, où l'Europe centrale est marquée par la présence de *B. suis*. Une étude récente en Tanzanie (zone d'endémie palustre) a montré que des zoonoses bactériennes étaient retrouvées dans 26,2% des cas fébriles (dont 13,6% étaient associés à la brucellose). Dans une autre revue de la littérature portant sur 653 patients fébriles du nord de l'Éthiopie, *Brucella abortus* a été isolée dans 6,3 % des cas.

Au Mali, le lait a été étudié par Bonfoh et al. En 2002, on indiquait que 53 % des élevages étaient infectés et la prévalence chez les animaux était de 15 %. Selon Dao et al., à Mopti, la séropositivité de *B. melis* était de 58 % et celle de *B. abortus* était de 49 %. En 2009. Au Laboratoire Central Vétérinaire (LCV) de Bamako durant la période 2010-2016, sur 7493 échantillons de sérum bovin, 1087 (14,5%) se sont révélés sérologiquement positifs pour la Brucellose.(Mariam Traore., 2018)

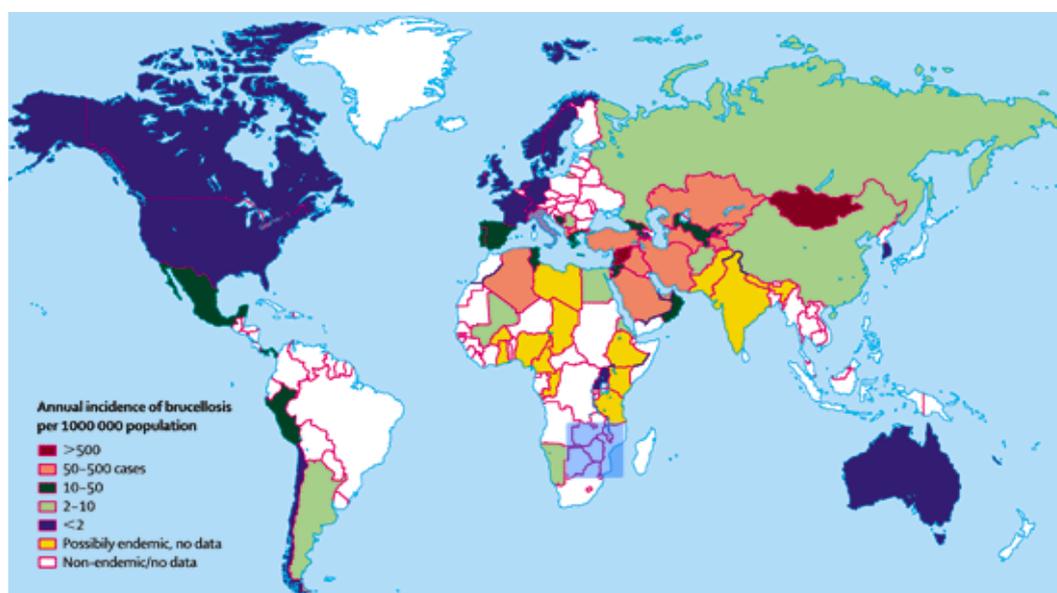


Figure 5: Incidence mondiale de la brucellose

3.1. Espèces réceptives

Les principaux réservoirs animaux des *Brucella* sont les bovins (*B. abortus*), les ovins et caprins (*B. melitensis*) et les porcins (*B. suis*) domestiques

Brucella a également été isolée d'autres espèces domestiquées (chameau, buffle, renne, yak, etc.) et de nombreuses souches de ruminants et d'autres mammifères sauvages terrestres (bison, cerf, lièvre, caribou, sanglier, antilope, bouquetin), etc.).

Les animaux sauvages peuvent parfois constituer un réservoir à *Brucella* et il existe un potentiel de transmission accidentelle aux ruminants domestiques (ex. bison aux États-Unis et bouquetin ou sanglier en France). Des souches de *Brucella* ont été isolées chez des mammifères marins, notamment des cétacés (baleines à fanons, dauphins, marsouins, etc.), des pinnipèdes (phoques, lions de mer, morses, etc.) et des loutres.

Les animaux infectés excrètent du matériel contaminé dans l'environnement (contenu utérin de la gestation, sécrétions vaginales, urine, lait, sperme, produits purulents). Les *Brucella* (*Abortus* et *Mori*) prospèrent dans des conditions humides et à basse température ($\leq 4^{\circ}\text{C}$). *Brucella* peut survivre plus de deux mois dans une eau à 20°C , deux mois sur de l'herbe fraîche dans le sol et les milieux humides, huit mois dans la boue, et sur des substrats secs (foin, poussière, barrières de clôture, etc.) peut aussi survivre pendant plusieurs mois.).(ANSES.,2014)

3.2. Mode de contamination :

La brucellose est transmise par le lait et les produits laitiers contaminés et non traités, Ainsi que par contact direct avec des animaux infectés (bétail, moutons, chèvres, porcs, Chameaux, buffles, ruminants sauvages et, très récemment, phoques), carcasses d'animaux et produits d'avortement.

- 1) Directe :** (Transcutanée) Pendant la mise basse, après traitement des agneaux, d'avortons, annexes et placenta. Il est plus sensible aux infections en travaillant à mains nues (les germes peuvent traverser une peau saine), la conjonctive (manipulation manuelle) ou la respiration (inhalation). Ce modèle attribue des caractéristiques professionnelles à la maladie : berger, vétérinaire, agriculteur, ouvrier d'abattoir, laborantin, etc.(Dr GUENIFI n.d.)
- 2) Indirecte :** (Digestive) Cela se fait généralement avec de la nourriture. L'invasion des germes est l'oropharynx. Le lait, le beurre, les fromages de vache ou de brebis qui ne sont ni fermentés ni pasteurisés sont les coupables. Cependant, cet effet n'est pas unique, car les

légumes crus et la viande insuffisamment cuite sont également des sources de contagion possible. (Mariam Traore., 2018)

3.3. Facteurs de risques

Les éleveurs, les agriculteurs, les vétérinaires et les ouvriers des abattoirs sont tous exposés professionnellement à la maladie. Le personnel de laboratoire peut être accidentellement infecté par la brucellose lors de la manipulation de cultures de *Brucella* ou d'échantillons biologiques contaminés. Un exemple inhabituel de contamination serait un artisan venant travailler dans une grange ou une bergerie infectée alors qu'elle était vide (du fait de l'élevage nomade), ou perforant accidentellement le vaccin vivant B19, Rev-1 lors d'une vaccination transdermique. ...en médecine vétérinaire, les reproducteurs sont rares.

- **Groupes à risque de développer la maladie**

Les éleveurs, les agriculteurs, les vétérinaires et les travailleurs des abattoirs sont tous exposés professionnellement à la maladie. La brucellose peut être infectée par : Les personnes qui subissent une valvuloplastie cardiaque courent un risque élevé de développer une brucellose grave (endocardite).

- **Grossesse et allaitement**

Chez la femme enceinte, la brucellose peut être à l'origine d'avortements, d'accouchements prématurés ou de morts in utero, particulièrement durant le premier trimestre de la grossesse. De rares cas de transmission à des nourrissons par allaitement maternel ont été rapportés. (GUERNINE et al., 2020)

3.4. Prévalence

Des échantillons de sang ont été prélevés sur un total de 1324 patients en 2015-17. 704 (53.2%) des 1324 échantillons de sérum ont montré une agglutination dans le test Rose Bengal et 559 (79.4%) des 704 ont été considérés comme séropositifs sur la base d'un titre de test d'agglutination standard de 1 :80 UI/mL ou plus. Seulement 130 (23.3%) des 559 échantillons séropositifs provenaient de patients non sous traitement antibiotique. Lors de la culture, seulement 72 (12.9%) des échantillons séropositifs ont montré des signaux de croissance et étaient positifs par PCR pour le marqueur du genre *Brucella*, et tous les isolats étaient *B melitensis*. Aucun des échantillons n'était associé à la souche vaccinale *B melitensis* Rev 1. Les résultats du séquençage du gène rpoB par séquençage de nouvelle génération ont

montré quatre variations nucléotidiques uniques différentes qui n'étaient pas localisées dans la région déterminant la résistance à la rifampicine. En utilisant l'analyse MLVA-16 et le benchmark de la banque MLVA, les isolats étudiés ont été divisés en 22 génotypes uniques. Une analyse de regroupement hiérarchique des 72 isolats et des 18 isolats globaux de *B. melitensis* représentant quatre grandes régions du Moyen-Orient, d'Europe, d'Afrique et d'Amérique, a regroupé les 73 isolats du clade du Moyen-Orient, fournissant une valeur seuil de similarité de plus de 97% pour le génotype et plus de 75% pour le clade. (Aljanazreh et al., 2022)

3.5. Impact économique et sanitaire

D'après **SIBILLE (2006)** et **FREYCON (2015)**, l'importance de la maladie varie selon les pays en fonction des mesures de lutte mises en œuvre pour son éradication, et des populations animales locales. Elle est liée d'une part à sa capacité à provoquer chez l'homme la « Fièvre de Malte », ce qui en fait une zoonose majeure, et d'autre part à ses conséquences économiques en élevage. (Ben Gaid et Ben Krid., 2021)

3.5.1. Impacts économiques

La brucellose a provoqué de graves pertes de reproduction. En effet, son importance économique est équivalente à l'avortement, à la perte stérile et au lait, et parfois de manière populaire. De plus, l'énorme coût d'élimination de ses mesures d'élimination aura un impact sérieux sur le commerce. (Ben Gaid et Ben Krid., 2021)

3.5.2. Impacts sanitaires

La maladie de Brucellose est généralement une maladie professionnelle. C'est principalement rencontrée dans le contact de ceux qui sont en contact avec des agriculteurs, des vétérinaires, des abattoirs ou des laboratoires de diagnostic, ou accidentellement vaccinés avec des vaccins anti-cellulose. Il faut pointer le public en a un passionné, car cette espèce est plus pathogène que la brucémie humaine. (Ben Gaid et Ben Krid., 2021)

4. Etude clinique

La durée d'incubation de la brucellose peut être très variable, de deux semaines à cinq mois et le tableau clinique est habituellement polymorphe : c'est la « maladie aux cents visages ».

La brucellose a une symptomatologie polymorphe. Les différentes phases de la maladie correspondent aux différentes étapes de la physiopathologie :

- La brucellose aiguë
- La brucellose suraiguë ou focalisée,
- La brucellose chronique

4.1. Brucellose aiguë

La forme poly modique est la forme la plus classique et la plus rare (PERELMAN.,1970). Après 14 à 21 jours de période d'incubation, le tableau classique du papier ondulé sudéo-algique est apparu. La fièvre est accompagnée de sueur : la nuit et les bénéfices de la saveur errante humide, et avec une grande douleur arthro-musculaire, brièvement (BODELET, 2002). Selon KERNBAUM, 1982 les examens peuvent révéler la molleté de la rate, parfois l'hépatatoblastie ou l'adénome.(Ben Gaid et Ben Krid., 2021)

4.2. Brucellose suraiguë ou focalisée

Elle correspond à la phase de dissémination de la maladie vers des foyers secondaires (la bactérie est retrouvée dans le sang et les lésions suppurées). Elle apparaît tout de suite après la primo-infection ou très longtemps après. Elle est caractérisée par des atteintes ostéoarticulaires avec abcès osseux, mais aussi des atteintes viscérales (organes génitaux, atteintes hépatiques) ou encore des atteintes méningées (neurobrucellose).(Eurofins Biomis 2018)

4.3. Brucellose chronique

(Patraquerie brucellienne) : elle vient parachever l'évolution de la maladie ou être en apparence cliniquement inaugurale. Son expression clinique est double :

- Générale avec une symptomatologie subjective dominée par une asthénie (physique, psychique et sexuelle) avec une note dépressive, un déséquilibre thermique à l'effort.
- Focale : foyers quiescents ou peu évolutifs : osseux, neuro-méningés ou autre.(Dr GUENIFI n.d.)

5. Immunité

L'infection à *Brucella* déclenche une immunité cellulaire et humorale, mais la force et la durée de cette réponse dépendent de nombreux facteurs : virulence de la souche, dose d'inoculum, espèce hôte, sexe, statut reproducteur et immunitaire de l'individu, etc. Les bactéries du genre *Brucella* ont longtemps servi de modèles pour étudier l'immunité contre les pathogènes bactériens intracellulaires. Il a ainsi été rapidement démontré que la résistance de l'hôte à ce pathogène repose essentiellement sur l'immunité cellulaire.(Freycon.,2015)

5.1. Réponse immunitaire innée

Aide à protéger rapidement l'organisme des agressions extérieures. Contrairement à l'immunité adaptative, l'immunité innée n'est pas spécifique à un antigène. Les cellules immunitaires innées sont les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules tueuses naturelles (NK). Grâce à leurs récepteurs de type Toll (TLR), ils reconnaissent les antigènes appartenant au modèle moléculaire du microbiome à motif moléculaire associé aux agents pathogènes (PAMP). Les lipopolysaccharides (LPS) de bactéries Gram-négatives, comme le LPS de *Brucella*, font partie de ces PAMP. Les cellules dendritiques captent les éléments étrangers, les englobent et les détruisent par l'action des phagolysosomes. Ainsi, les agents infectieux sont convertis en peptides, qui traversent CMH de classe II. Les peptides ainsi exposés pourront être « reconnus » par le système immunitaire adaptatif. Les cellules dendritiques sont, comme les macrophages, des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Elles produisent, par ailleurs, des cytokines, molécules modulant la réponse immunitaire.

Également productrices de cytokines, les cellules Natural Killer (NK) détruisent les cellules infectées, sans garder la mémoire des antigènes qui les ont stimulées. L'action lytique des cellules NK semble notamment être déclenchée par une absence de reconnaissance du CMH I à la surface d'une cellule. (GUERNINE et al., 2020)

5.2. Réponse immunitaire adaptative

Toutes les cellules du système immunitaire présentent des cellules souches hématopoïétiques pluripotentes de la moelle osseuse. L'immunité adaptative est assurée par les lymphocytes, qui reconnaît un antigène de façon spécifique. Elles se différencient dans les tissus lymphoïdes de cette moelle osseuse pour les lymphocytes B (B comme Bonemarrow) ou du thymus pour les lymphocytes T (T comme Thymus). Les lymphocytes B sont quant à eux les principaux acteurs de la partie humorale de l'immunité spécifique en anticorps dirigé contre les antigènes brucelliques. (Freycon., 2015)

5.3. Réponse 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)

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

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

prolifération de lymphocytes T helpers 1 (Th1). Les Th1 produisent de l'interféron gamma (IFN γ), qui favorise la destruction des brucelles intracellulaires par les macrophages et les 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. (Fig6).(GUERNINE et al., 2020)

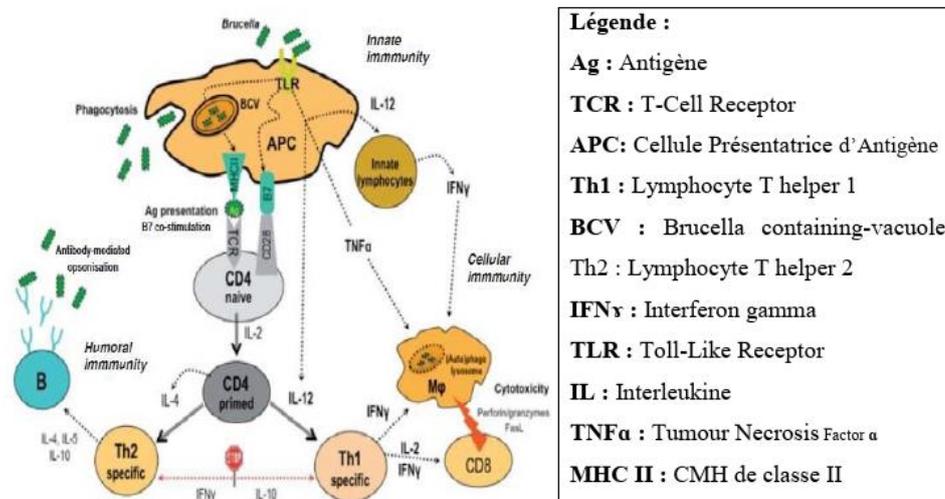


Figure 6: Schéma simplifié de la réponse immunitaire contre *Brucella*. (GUERNINE et al. 2020)

La réponse humorale révélée par différents tests sérologiques est principalement dirigée contre le LPS (thymo-indépendant) particulièrement sur sa chaîne O. Par ailleurs, la production d'anticorps dirigés contre les protéines de la membrane externe, de périplasmе dont les protéines de stress de *Brucella* ont également été décrites. Néanmoins la réponse anti-protéines est plus tardive et plus hétérogène que la réponse anti-LPS.(BOUFERKAS Yasmina and FELLATI Abdellah 2018) L'immunité humorale contre les *Brucella* consiste en une réponse précoce en IgM, dont le timing dépend de la voie d'exposition, de la dose infectieuse et de l'état de santé de l'hôte. La réponse en IgM est suivie presque immédiatement par la production d'IgG1 et plus tard d'une petite quantité d'IgG2 et d'IgA. (Yasmina et Abdellah., 2018)

. Vu que les IgG2 et IgA ne s'accumulent que tardivement et en quantités faibles et inconstantes, le principal isotype recherché par les tests sérologiques est l'IgG1 ; c'est-à-dire, les tests mesurant principalement IgG1 sont les plus utiles.(Yasmina et Abdellah., 2018)

Tableau 3 : Effecteurs de la réponse humorale contre la brucellose. (BOUFERKAS Yasmina and FELLATI Abdellah., 2018)

Immunoglobulines détectées

Test	IgG1	IgG2	IgM	IgA
SAW	--	+	+	--
EAT	+	--	+	--
FC	+	--	+/--	--
ELISA	+	+	+/--	+/--
Lait	+/- --	+/- --	++	++

6. Diagnostique

Le diagnostic est un processus visant à confirmer l'apparition de la maladie. Ces méthodes varient et conduisent soit à des recherches directes, soit à des recherches indirectes. La détection directe met en évidence la bactérie ou ses composants. Les méthodes biologiques font partie du processus de recherche directe. Le diagnostic indirect de la brucellose peut être fait en utilisant plusieurs méthodes sérologiques et peut être fait en utilisant du sérum et/ou du vrai lait. (Amina et Fatima., 2016)

6.1. Diagnostique direct

La méthode de référence pour le diagnostic de certitude de la brucellose à *B. melitensis* reste l'isolement du coccobacille. (Freycon., 2015). Le diagnostic bactériologique peut ainsi se faire de différentes manières, par bactérioscopie simple ou par culture puis identification de la bactérie.

6.1.1. Bactérioscopie

Elle se fait avec des prélèvements tels que des écouvillons ou des écouvillons préputiaux, des échantillons de lait, des capes placentaires ou des tissus avortés (rate, ganglions lymphatiques). Les lames obtenues sont placées sur le spot du tampon, Köster ou Machiavel, le premier étant le plus couramment utilisé (**Figure 8**). Cette méthode est rapide et bon marché, mais elle est stupide. De plus, certaines bactéries peuvent être trouvées chez les petits animaux avec une morphologie similaire à *B. melitensis*, comme *B. ovis*, *Chlamydia psittaci* ou *Coxiella burnetii*. Ces similitudes peuvent entraîner une incertitude dans le diagnostic.

Ces concepts expliquent le fait que la culture représente un simple examen au microscope des bactéries présentes dans le corps.(Freycon., 2015)

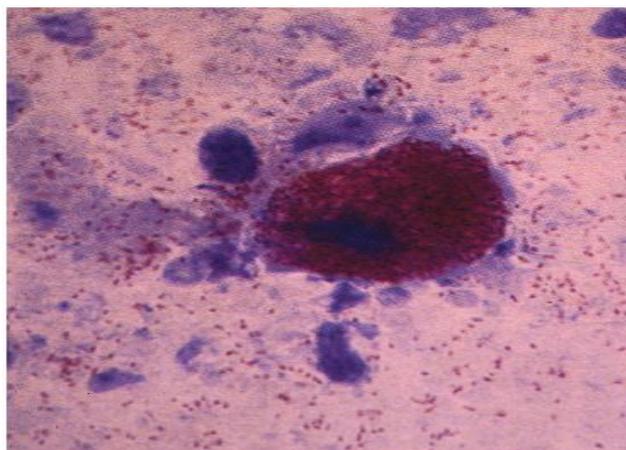


Figure 7: Observation microscopique de *Brucella* après coloration de Stamp (Source : Véronique Guérin-Faubleé, Vetagro Sup)

6.1.2. Culture

- L'hémoculture est le plus souvent positive à la phase aiguë, voire subaiguë de la maladie. - La culture à partir de biopsies ou de pus montre des colonies transparentes, convexes, aérobies strictes, catalase +, oxydase +. La culture est lente et les germes très exigeants, ce qui en limite l'intérêt.(Eurofins Biomis., 2018).

Les conditions physiques optimales pour la croissance de *Brucella* sont :

- PH= 6,8
- Température optimale de 35°C
- Croissance favorisée par CO₂ 5 à 10 % (*Brucella abortus*).

6.1.3 PCR

De nombreux tests PCR visant à détecter le genre ou l'espèce *Brucella* ont été établis à l'aide d'amorces pour différentes séquences de gènes dans le génome, telles que le gène ARNr 16S, le gène espaceur 16S-23S, omp2 et bcs31. Ces tests conviennent à la détection de *Brucella* dans différents échantillons cliniques. La plupart des études ont montré que la PCR de routine est une bonne méthode pour détecter l'ADN de *Brucella* dans des échantillons cliniques. De plus, l'introduction de la PCR en temps réel augmente la sensibilité, la spécificité et la vitesse d'exécution par rapport aux tests PCR traditionnels. En fait, la plupart des auteurs ont confirmé que la PCR en temps réel est une méthode très sensible pour les échantillons cliniques. (Yasmina et Abdellah., 2018)

6.2. Tests immuno-sérologiques

Ces techniques sont nombreuses et d'intérêt variable : elles ne révèlent pas la même classe d'anticorps. Les IgM deviennent détectables à partir du 10^{ème} jour après l'apparition des premiers symptômes cliniques, suivies des IgG dont la concentration augmente. Les IgG et IgM se retrouvent dans la phase aiguë de la maladie. L'IgM disparaît alors et n'est plus détectable dans la phase chronique, tandis que l'IgG demeure. A noter qu'il existe de nombreuses réactions croisées, notamment avec d'autres bactéries telles que *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* sérotype 09, et *Vibrio cholerae*. (Eurofins Biomis., 2018)

La recherche des anticorps par la réaction du rose bengale et par le SAW, gardent leur valeur comme techniques de dépistage. La recherche des anticorps par les techniques IFI ou ELISA sont plus spécifiques et permettent un avis plus sûr en matière d'évolutivité de l'infection. Une forte hypersensibilité aux antigènes brucelliens permet d'affirmer une forme chronique de la maladie. (KOUIDRI and MANARI 2008)

6.2.1. Sérologie de Wright

Le sérodiagnostic de WRIGHT 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.(MECHERI R and CHEBAIKI M 2022)

Le sérodiagnostic de WRIGHT est une réaction d'agglutination utilisant comme antigène une suspension de *Brucella* tuées par le formol et la chaleur. Si un titre supérieur ou égal à 1/80 (120 U.I/ml) indique une brucellose active, un titre plus faible (1/40, et même 1/20) a valeur de forte présomption. Si anticorps bloquants et phénomène de zone, relativement fréquents, peuvent être responsables de résultats faussement négatifs, des parentés antigéniques peuvent être cause de résultats faussement positifs.(Bio-Rad., 2014)



Figure 8: Le test de séroagglutination en tube (test Wright)

6.2.2. Réaction du rose Bengale ou épreuve à l'antigène tamponné (EAT)

C'est une méthode d'agglutination sur lame utilisant un antigène coloré au rose Bengale. Rapide, spécifique et sensible, elle met en évidence les anticorps de type IgG dans le sérum. Elle sera suivie d'un SAW pour quantification si le résultat est positif. Elle est surtout utilisée pour les diagnostics de brucellose aiguë et suraiguë, mais aussi pour la brucellose chronique (elle reste positive très longtemps). (Eurofins Biomis., 2018)



Figure 9: Test de Rose Bengal (personnelle)

6.2.3. Réaction de fixation du complément

Elle détecte des immunoglobulines de type IgG. Elle se positive plus tardivement que la séroagglutination de Wright mais persiste plus longtemps et est donc utile dans le diagnostic des localisations viscérales focalisées. Le titre est maximal au 3e mois et se négative 12 mois après la guérison clinique. (Janbon et Maurin., 2005)

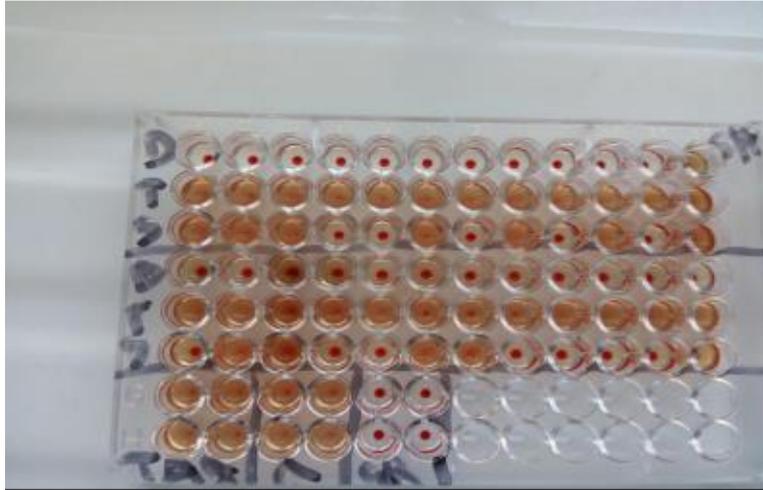


Figure 10: Le test de fixation du complément (AFNOR., 2009)

6.2.4. Technique ELISA (Enzyme Linked-Immunosorbent Assay)

Ce test est équivalent au test de fixation du complément en sensibilité et en spécificité. Elle peut être réalisée sur le sérum ou le lait du troupeau laitier. Cette technique permet la détection d'anticorps dirigés contre divers antigènes à partir de pincettes intactes ou isolées plus ou moins purifiées. Parmi ceux-ci, le LPS-S ou les extraits solubles bruts détectent les anticorps avec la même spécificité que l'agglutination. L'avantage du test ELISA est sa grande sensibilité, supérieure à l'immunofluorescence. Ils mettent en évidence de très petites quantités d'anticorps et sont idéaux pour les enquêtes épidémiologiques.(Sahraoui et al.,2022)

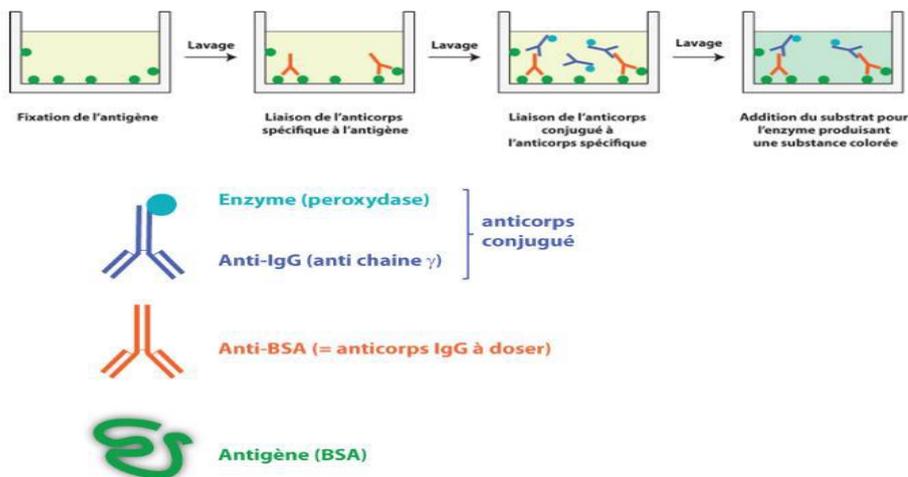


Figure 11: Principe de la Technique immuno-enzymatique (ELISA)(Sahraoui et al., 2022)

6.2.5. Immunofluorescence indirecte (IFI)

Elle met en évidence les IgM et les IgG et permet leur titrage respectif. C'est une technique très sensible et spécifique utile dans le diagnostic des formes chroniques de la maladie (reste positive au moins 18 mois).(Eurofins Biomis 2018)

6.2.6. Intradermoréaction à la mélitine

Elle met en évidence l'hypersensibilité retardée d'un individu à l'antigène brucellien. La lecture s'effectue 24 à 48 heures après l'injection intradermique. Au cours de la maladie, elle se positive environ 4 semaines après le début des signes cliniques et demeure positive de nombreuses années. Son intérêt se situe essentiellement dans le diagnostic de la brucellose chronique, mais il sera souvent difficile de distinguer une vraie brucellose chronique d'une brucellose guérie. Ce test n'est cependant plus réalisable en raison de l'arrêt de la fabrication de l'antigène spécifique.(Janbon et Maurin ., 2005)

7. Traitement

Les *Brucella* sont sensibles in vitro à de nombreux antibiotiques sans oublier qu'il s'agit de bactéries intracellulaires facultatifs.(Mariam Traore., 2018) . Le traitement de la brucellose repose sur l'association de 2 antibiotiques : tétracycline (doxycycline) et rifampicine pendant une durée de 6 à 8 semaines. L'antibiothérapie n'est plus efficace sur les formes chroniques.(Eurofins Biomis., 2018).

La prévention consiste à prendre des précautions en matière d'hygiène alimentaire et professionnelle. Elle est aussi assurée par l'éradication de la brucellose animale par abattage de troupeaux, vaccination animale, etc. Il n'existe pas de vaccin humain(Eurofins Biomis., 2018).

7.1. Traitement curatif

Le traitement curatif de la brucellose repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Son but est de traiter la maladie et d'éviter la survenue de complications et de rechutes.

Les antibiotiques : Les antibiotiques prescrits doivent être actifs sur *Brucella*, avoir une bonne diffusion intracellulaire et une activité conservée en intracellulaire. Les antibiotiques les plus actifs sont les cyclines (oxytétracycline et doxycycline), les aminosides (streptomycine et gentamicine) et la rifampicine(Dr BENSADOUN 2020). Tous ces antibiotiques sont bactéricides in vitro vis-à-vis de *Brucella*. Les cyclines et la rifampicine conservent leur

Chapitre : Infections par *Brucella* spp.

activité en milieu intracellulaire et en pH acide, alors que les aminosides ont surtout une activité extracellulaire (tableau 4). La prescription des phénicolés est, actuellement, abandonnée en raison de leur faible activité (CMI : 1,5 à 3 mg/l) et leur hématotoxicité (surtout le chloramphénicol). Les fluoroquinolones, molécules récentes dans cette indication, ont une bonne biodisponibilité orale et une bonne diffusion intracellulaire. Le tableau 5 résume les modalités de prescription, les effets indésirables et les éléments de surveillance des principaux antibiotiques (Chakroun et Bouzouaia, 2007).

Tableau 5 : Activité des principaux antibiotiques

Famille	Molécule	CMI (mg/L)	Activité
Cyclines	Oxytétracycline	0,001-0,6	Activité bactéricide.
	Doxycycline	0,01-0,25	Antibiotiques actifs au pH acide des phagolysosomes
Aminosides	Streptomycine	0,5-8	Rapidement bactéricides. Antibiotiques
	Gentamicine	0,25-1	Surtout actifs en secteur extra-cellulaire. Synergique en association avec les cyclines.
Rifamycines	Rifampicine	0,5-2	Bonne diffusion tissulaire et intracellulaire. Activité bactéricide en intracellulaire et en pH acide. Synergique en association avec les cyclines.
Sulfamides	Triméthoprim Sulfaméthoxazole	0,4-12,5	Bonne diffusion intracellulaire uniquement pour le triméthoprim. Activité variable en fonction des souches testées.
Fluoroquinolones	Ofloxacine	0,3-2,5	Diminution nette de leur activité et faible pouvoir bactéricide en pH acide.
	Ciprofloxacine	0,5-2,5	

Tableau 4 : Principaux antibiotiques prescrits au cours de la brucellose

Familles	Molécules	Posologies adulte et voies d'administration	Effets Indésirables	Précautions d'emploi
Cyclines	Oxytétracycline	35 mg/kg/j PO	Photosensibilité	Contre indication : femme enceinte et enfant < 8 ans
	Doxycycline	200 mg/j PO		
Aminosides	Streptomycine	1 g/j IM	Néphro et ototoxicité	Adaptation de la posologie en cas d'insuffisance rénale
	Gentamicine	5 mg/kg/j IM		
Rifamycines	Rifampicine	15 mg/kg/j PO	Coloration rouge des urines Manifestations immuno-allergiques (prise discontinuée)	
Sulfamides	Triméthoprim Sulfaméthoxazole	8 mg/kg/j 40 mg/kg/j PO	Leucopénie, anémie Allergie	Surveillance NFS Contre indication : femme enceinte
Fluoroquinolones	Ofloxacine	400 mg/j	Photosensibilité Tendinopathie	
	Ciprofloxacine	1,5 g/j		

7.2. Traitement Préventif

De plus il y'a quelques procédures qu'elles peuvent être considérées comme un traitement préventif tel que (Sahraoui et al., 2022):

- Déclaration obligatoire de la maladie
- Lutte contre la maladie animale :
- Surveillance du cheptel, abattage des animaux séropositifs
- Vaccination des bêtes
- Protection individuelle humaine :
- Consommation de lait et de produits laitiers pasteurisés
- Port de gants et de masques en milieu rural.

Certaines règles peuvent aussi être ajoutées aux préventions contre la maladie :

- L'application des principes et procédures prévus dans le Code zoosanitaire international de l'OIE pour le transport de produits animaux.
- Le suivi de test pour les animaux ; ainsi que les mesures de quarantaine spécifiées dans ce code.

8. Prophylaxie

Elle repose sur des mesures animales et humaines. Les mesures humaines reposent sur la déclaration obligatoire de maladie, l'hygiène opérationnelle (port de gants, lavage des mains), l'éducation sanitaire et la consommation de produits laitiers pasteurisés. La vaccination des personnes exposées par fraction PI est actuellement abandonnée. (Chakroun et Bouzouaia., 2007)

8.1. Prophylaxie sanitaire

Le but de la prophylaxie sanitaire est de prévenir l'apparition et la propagation des maladies en n'utilisant que des moyens hygiéniques : désinfection, quarantaine, sécurité aux frontières, dépistage des malades, des porteurs ou des personnes en bonne santé. Ces mesures sont donc

modulées en fonction de la situation épidémiologique et des objectifs recherchés (Ben Gaid et Ben Krid., 2021). Dont il y a deux types :

8.1.1. Défensive

Les mesures défensives sont essentielles pour les pays infectés ainsi que pour les pays indemnes qui envisagent de lutter contre la brucellose. (M.Chakroun and N.Bouzouaia n.d.)

D'après **BODELET, 2002** les mesures de défense sont : le contrôle des animaux aux frontières, permettant l'introduction du seul bétail certifié indemne, la quarantaine et le contrôle individuel par sérologie, le renforcement de l'hygiène reproductive et la surveillance des animaux à haut risque, notamment lors de l'insémination artificielle ou de l'élevage public.

De plus, il faut protéger le cheptel de la contamination communautaire, isoler les femelles et détruire les placentas lors de la mise-bas, désinfecter les locaux et inspecter régulièrement le cheptel (Ben Gaid et Ben Krid., 2021).

8.1.2. Offensive ou mesures d'assainissement

Selon **ARAITAHEBANO (2013)** et **SIBILLE (2006)**, les mesures offensives sont un ensemble de mesures visant à nettoyer les élevages infectés.

Les mesures sanitaires sont : le dépistage, l'isolement et l'extermination des animaux infectés, la désinfection régulière des locaux et objets infectés, l'élimination des jeunes femelles nées de mères infectées, le contrôle de toutes les espèces sensibles et l'élimination des animaux infectés, le recours à l'insémination artificielle pour limiter la transmission des MST (Ben Gaid et Ben Krid., 2021)

Partie expérimentale

1. Matériels et méthodes

1.1. Présentation de la région d'étude

1.1.1. Situation géographique

La wilaya de Tébessa est située à l'extrême nord-est du pays et fait partie des hauts plateaux Est et des immenses étendues steppiques du pays. Elle s'étend sur une superficie de l'ordre de 13 878 Km² et partage avec la république tunisienne une frontière de 297 Km de long (10 communes frontalières). Elle est limitée : Au nord, par la wilaya de Souk Ahras ; à l'ouest, par les wilayas d'Oum El Bouaghi et Khenchla ; au sud, par la wilaya d'El Oued et à l'est, par la Tunisie, Cette wilaya englobe 28 communes, encadrées par douze Dairates (Fig. 12).

1.1.2. Climat

1.1.2.1. Etage bioclimatique

La région d'étude fait partie du haut plateau tellien de l'étage bioclimatique semi-aride, caractérisée par un hiver froid et un été très chaud avec une température moyenne 16.05°C, avec un maximum au mois de juillet de 43°C et minimum au mois de janvier 4°C. La superficie totale de la wilaya se divise en quatre groupes homogènes du côté des données climatiques, édaphiques et du couvert végétal. Elle se distingue par quatre étages bioclimatiques :

- Le subhumide : 400 – 500 mm de pluie/an et peu étendu ; il ne couvre que quelques ilots limités aux sommets de quelques reliefs : Djebel Serdies et Djbel Bouroumane ;
- Le semi-aride : 300 à 400 mm de pluie /an, couvre toute la partie nord de la wilaya et est représenté par les sous étages frais et froids ;
- Le sub- aride : 200 à 300 mm de pluie /an, couvre les plateaux steppiques de Oum-Ali, Saf Saf El-Ouessra, Thlidjane et Bir El Ater ;
- L'aride ou saharien doux : moins de 200 mm/an, s'étend au-delà de l'Atlas saharien et couvre les plateaux sud de Negrine et de Ferkane.

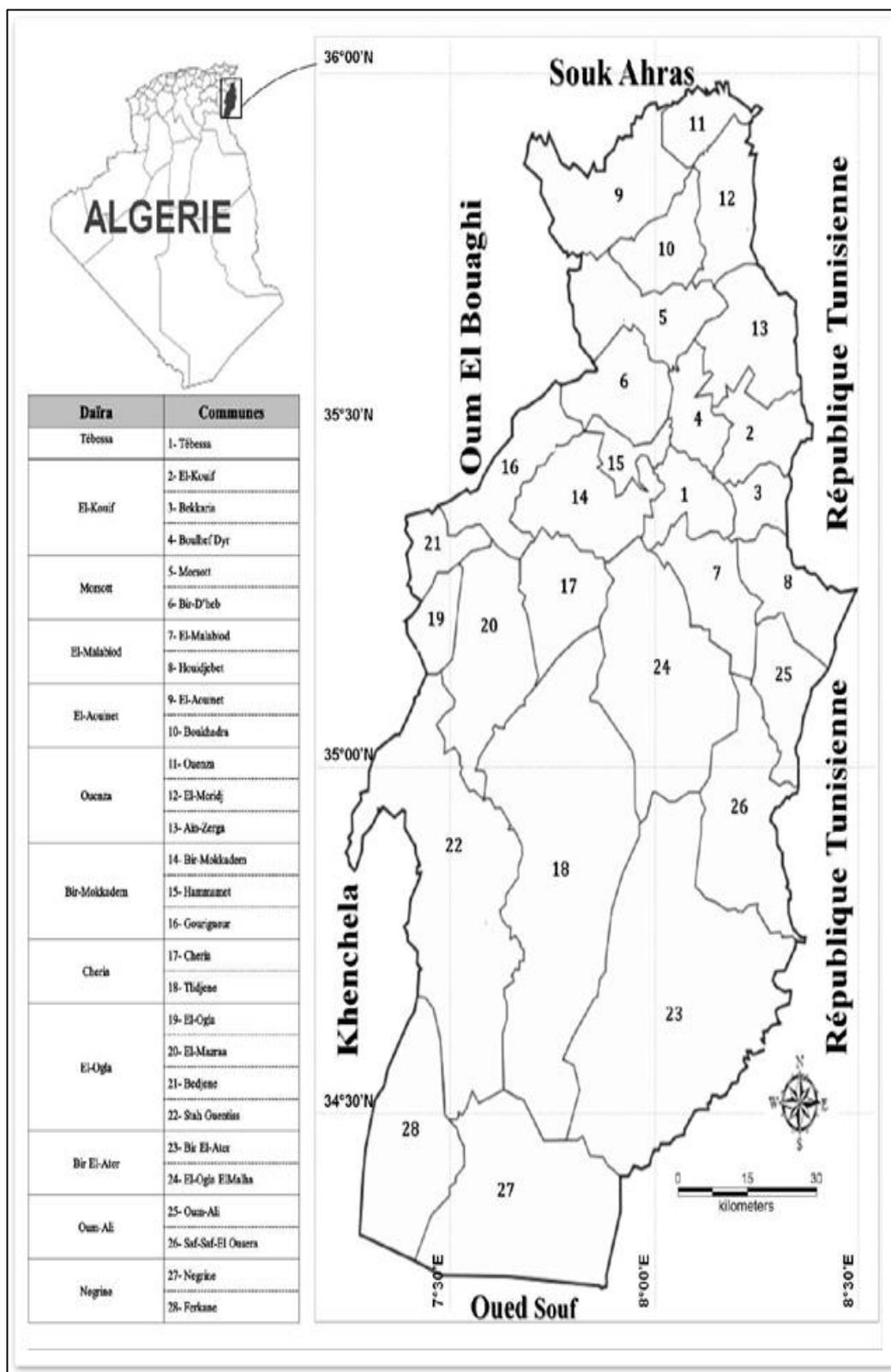


Figure 12 : Carte représentative de la localisation géographique et l'organisation administrative de la wilaya de Tébessa.

1.2. Conception d'étude

Notre travail est défini comme une étude transversale, les analyses sérologiques ont été réalisés dans deux lieux : L'établissement public hospitalier Bouguerra Boulaaras - Bekaria « service de laboratoire centrale » et l'établissement public de santé proximité Mohammed Chbouki - Chéria « service laboratoire d'hygiène - Paillasse de sérologie de brucellose ».

Elle se déroule au cours d'une période étalant du Avril 2023 à la première quinzaine de Mai 2023. Nous avons utilisé les sérums de 124 patients (déclaré cliniquement malade ou non), dont tous les personnes résidaient ou séjournèrent dans le territoire de la wilaya de Tébessa pendant la période d'étude. Une enquête a été réalisée également par la collecte de données de chaque individu, ces informations concernent : Le sexe, l'âge, le milieu d'habitation et l'état clinique.

Les prélèvements sanguins ont été effectués dans des laboratoires d'analyses médicales (Deux laboratoires privés et le laboratoire de l'établissement de santé public – cheria) et nous avons utilisé ces sérums (**Fig. 13**) après la réalisation des analyses demandés par les cliniciens.

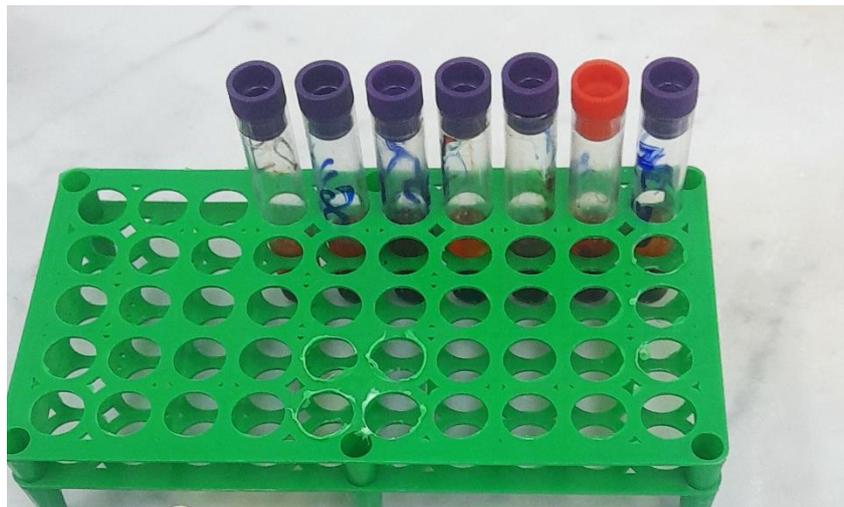


Figure 13: Sang prélevé et centrifugé dans des tubes sec (photo personnel)

1.4. Population d'étude

La présente étude inclus 124 sujets ; provenant de trois laboratoires d'analyses médicales :

*- Laboratoire privé « Elite » - Tébessa : Trois femmes et trois hommes.

*- Laboratoire privé « Hannibal » - Tébessa : 10 femmes et six hommes.

*- laboratoire d'hygiène de l'établissement public de santé proximité « Mohammed Chbouki» - Chéria : 53 femmes et 49 hommes.

1.5. Méthode sérologique

Tous les sérums obtenus ont été testé trois fois via deux tests sérologiques : le Test de Rose Bengale – TRB (avec deux protocoles différents) et le test de Séro – Agglutination de Wright (SAW).

1.5.1. Test de Rose Bengale

1.5.1.1. Description, principe et caractéristiques

Pour ce test, on utilise un kit Rose Bengale[®] fabriqué par CYPRESS DIAGNOSTIC. /Nijverheidsstraat 8, 2235 Hulshout, Belgium. Nous avons utilisé le LOT 354 REF 22202 ayant une date d'expiration en 28 Août 2024.

Nous avons testé tous les sérums par deux protocoles différents : le protocole standard et le protocole modifié.

TRB est une technique d'agglutination sur lame conçue pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps anti - *Brucella* dans le sérum humain. La suspension bactérienne est colorée et agglutinée avec des anticorps IgG ou IgM présents dans le sérum du patient. Formulé dans un tampon de pH acide, le réactif est capable de réagir avec les anticorps IgG ou IgM ; à cet effet, il est très utile pour détecter les individus dans les phases aigue et chronique de la maladie.

Dans les méthodes qualitatives ; dans le cas des réactions positifs, l'agglutination est visible (à l'œil nu) en moins de quatre minutes après une rotation lente de la lame. Ceci indique la présence de niveaux significatifs d'anticorps anti - *Brucella* (titre : ≥ 50 UI/ml). Cependant, l'absence d'agglutination est un résultat négatif, indiquant l'absence de taux significatifs d'anticorps (selon la notice, titre : < 50 UI/ml). Des témoins positifs et négatifs ont été systématiquement utilisés dans chaque série de réactions. La limite de sensibilité est de 25 UI/ml.

1.5.1.2. Réactifs

Le kit utilisé à des valeurs intrinsèques déclarées par le fabricant : 100% pour la sensibilité du diagnostic et 98 % pour la spécificité du diagnostic.

Le kit commercialisé contient (**Fig. 14**) :

- ✓ Le réactif RB, Suspension bactérienne *Brucella* Abortus souche S99, dans Tampon Lactate 1 mol/L, phénol 5 g/L, pH 3,6 (2,5 mL).
- ✓ Le kit fourni également :

- ✓ Un « Contrôle Négatif » - bouchon bleu, sérum animal
- ✓ Un « Contrôle Positif » - bouchon rouge, sérum animal avec un contenu d'anticorps anti-*Brucella* ≥ 50 UI/mL. Conservateur
- ✓ Plaques jetables.



Figure 14: Kit de Rose Bengale

1.5.2. Test de Séro - Agglutination de Wright

1.5.2.1. Description, principe et caractéristique

Nous avons utilisé, un kit *Brucella abortus* (Wright) fabriqué par DiaScan. LOT 22092903 REF SL03.01.100 ayant une date d'expiration en Septembre 2024.

Le SAW est une technique d'agglutination sur lame et en tube pour la détection et la semi quantification d'anticorps anti – *Brucella* spp. dans le sérum humain, les réactifs des suspensions bactériennes colorées et standardisées s'agglutinent en présence de l'anticorps correspondant dans les échantillons testés.

Le SAW est une réaction d'agglutination, utilise comme antigène une suspension de *Brucella* tuées par le formol et la chaleur. Si un titre supérieur ou égal à 1/80 (120 U.I/ml) indique une brucellose active, un titre plus faible (1/40, et même 1/20) a valeur de forte présomption.

Si anticorps bloquants et phénomène de zone, relativement fréquents, peuvent être responsables de résultats faussement négatifs, des parentés antigéniques peuvent être cause de réactions sérologiques faussement positifs (RSFP).

1.5.2.2. Réactif

Le kit contient l'antigène brucellique pour sérodiagnostic de Wright (suspension de *Brucella* tuées par la chaleur et le formol à 4%). Présentation dans une ampoule de 5 ml.



Figure 15: Réactif de Wright

1.5.3. Autres matériels et réactifs

- Tubes à usage unique.
- Gants à usage unique.
- Pipettes réglables ou fixes, pouvant mesurer et délivrer 50 μ l.
- Support de tubes.
- Papier absorbant.
- Eau distillée.
- Centrifugeuse.
- Agitateur mécanique rotatif à vitesse réglable à 80-100 r.p.m.
- Agitateur Vortex.

1.6. Protocole opératoire standard du TRB

1.6.1. Protocole standard du TRB

1. Porter le flacon (réactif) à la température ambiante (18-30°C) (**étape A – Fig. 16**).
2. Agiter le flacon pour homogénéiser la suspension.
3. Sur le support, déposer 50 μ l du sérum à étudier et 50 μ l de l'antigène tamponné (**étape B et C – Fig. 16**) et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame (**étape D et E – Fig. 16**).
4. Mélanger le réactif de RB vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi.

5. Déposer une goutte (50 μ L) près de chacune des gouttes précédentes (**étape F et G – Fig. 16**).
6. 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 (**étape H – Fig. 16**).
7. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m, pendant 4 minutes (**Fig. 17**).
L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

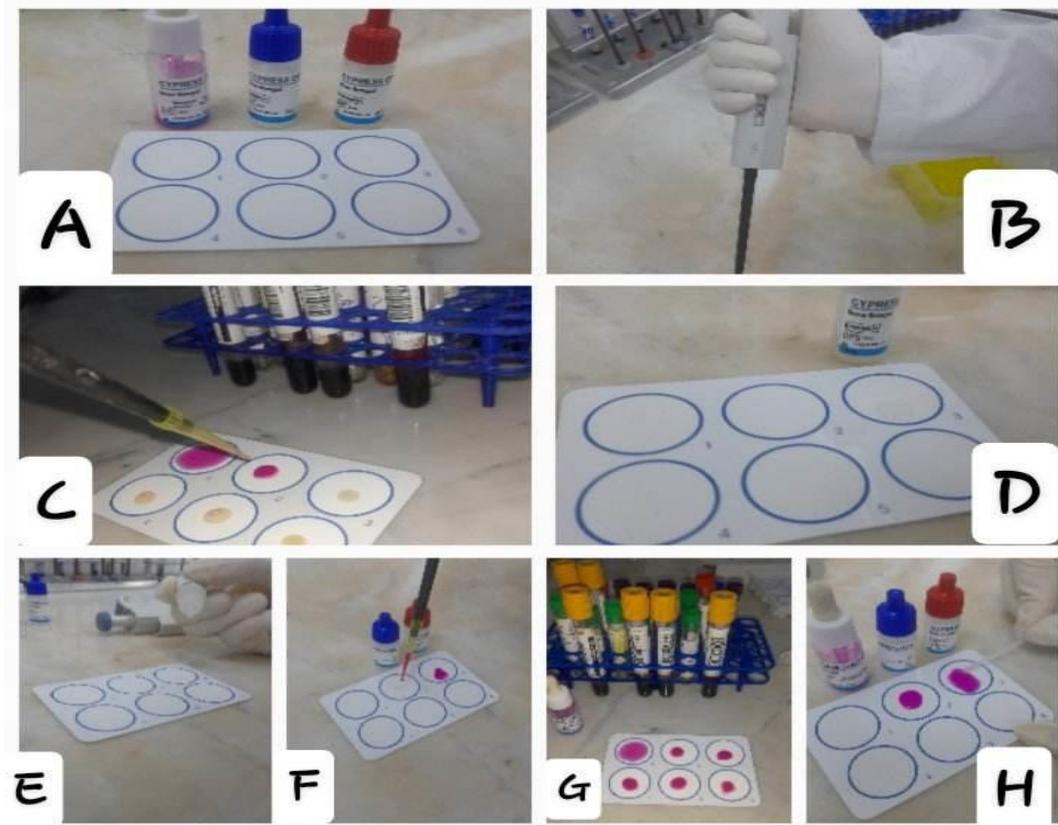


Figure 16: Etapes de méthode qualitative

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.
- ✓ Ne jamais congeler le réactif *Brucella* Rose Bengale.

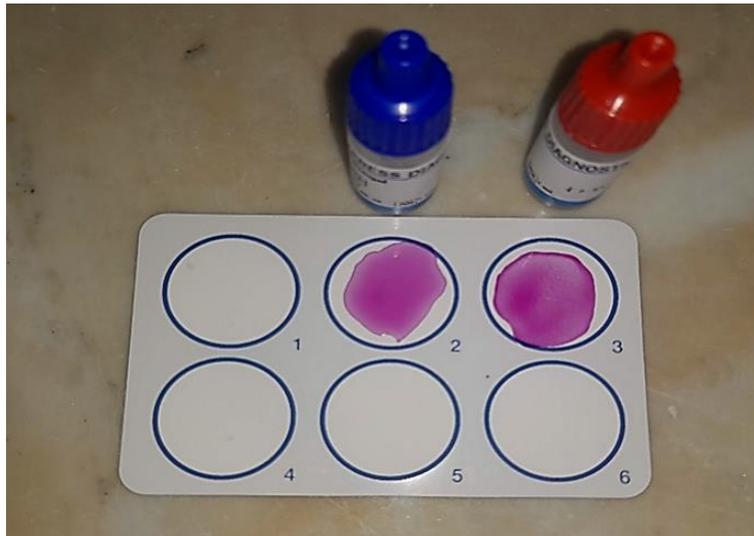


Figure 17: Résultat après 4 minutes d'agitation

1.6.2. Protocole modifié du TRB (TRBm)

Ce test a été réalisé selon la procédure décrite par **Blasco et al, 1994** en mélangeant 75 μ l de sérums et 25 μ l d'antigène. Les plaques ont été agitées pendant 4 minutes et toute agglutination apparaissant dans ce laps de temps a été considérée comme une réaction positive (**Blasco et al., 1994a**) (**Blasco et al., 1994b**). (Ferreira et al., 2003)

1.6.3. Lecture et interprétation

Immédiatement après avoir retiré la lame de l'agitateur, vérifier macroscopiquement la présence d'agglutination. La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti-Brucella égale ou supérieure à 25 UI/mL. Dans les méthodes semi-quantitatives, le titre est défini comme la dilution la plus élevée qui donne un résultat positif.

La Lecture et l'interprétation après 4 minutes, est comme suite :

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

1.6.4. Protocole opératoire du SAW

1.6.4.1. Méthode qualitative

1. Laisser reposer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai à basses températures.
2. Déposer 50µl de l'échantillon à tester et 1 goutte de 50µl de chaque témoin en cercles séparés sur une plaque.
3. Mélanger le réactif vigoureusement. Ajouter une goutte 50µl de l'antigène à proximité de l'échantillon à tester.
4. Mélanger à l'aide d'un agitateur en essayant d'étaler le mélange sur toute la surface interne de cercle.
5. Placer la plaque sur un agitateur tournant à 80-100 tr/min pendant 1 minute.
6. Lecture et interprétation : Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après 1 min (Fig. 18). La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti - Brucella égale ou supérieure à 1/80 (120 U.L/ml).

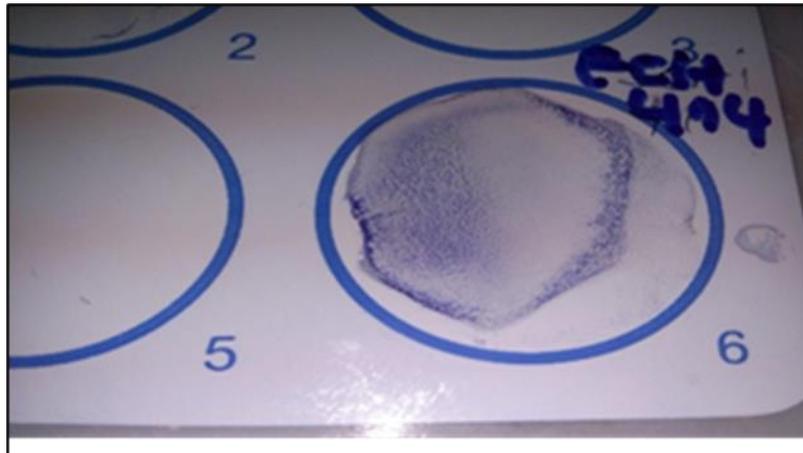


Figure 18: Formation d'une agglutination après 1 min d'agitation d'un échantillon infecté

1.6.4.2 Méthode semi-quantitative

1. Mettre horizontalement les tubes de sérums testés positifs en mode qualitatif dans un portoire (nous avons utilisés uniquement neufs sérums parmi les 19 sérums positifs).
2. Pour faire le titrage (dilution), mettre verticalement, quatre tubes devant chacun du tube déposé 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 rangés.
5. Déposer 50 µl de sérums dans les tubes de première rangé (1/80).
6. Prendre 50 µl du tube de première rangé et déposer dans le tube correspondant de deuxième rangé (1/160), et 50 µl du deuxième rangé déposé dans le troisième rangé (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.

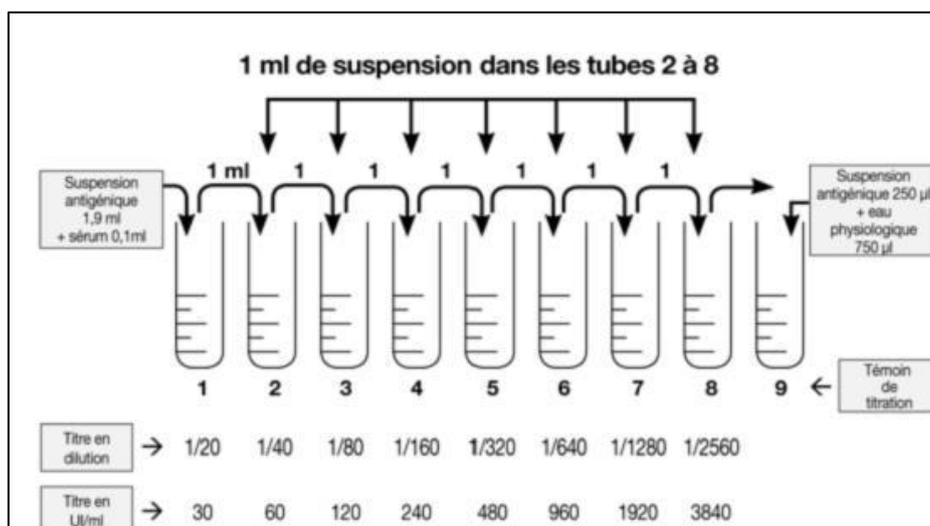


Figure 19: Titrage de test de Wright

1.7. Organisation, présentation graphique et analyse des données

Après analyse des sérums, nous avons procédé à l'organisation (**calcul de la prévalence individuelle apparente et les intervalles de confiance**), à la présentation graphique (**tableaux, cercle et graphiques**) et à l'analyse statistique des résultats, en déterminant la prévalence réelle et les paramètres intrinsèques et extrinsèques de chaque test utilisé et en analysant l'association statistique entre la séropositivité et cinq facteurs de risque putatifs.

1.7.1. 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)

$$PA = \frac{\text{Nombre de sujets testés positifs}}{\text{Nombre de sujets testés}} \dots \dots \dots (1)$$

L'intervalle de confiance à 95% de prévalence apparente a été établi à partir de la formule suivante :

$$IC = PA \pm 1.96 \sqrt{\frac{PA \times qA}{n}} \dots \dots \dots (2)$$

D'où : *.PA : La prévalence apparente, *.qA= (1-PA) et *.n : La taille de l'échantillon.

1.7.2. Analyse statistique pour les facteurs de risques

Après avoir collecté et organisé nos données, nous avons utilisé l'analyse univariée dans un premier temps pour analyser la relation entre la variable dépendante (séropositivité individuelle) et chacune des cinq variables explicatives (sexe, âge, milieu d'habitation, examen clinique et traitement), en utilisant en première étape le test de Khi-deux de Pearson (ou bien test de Fischer exact si l'effectif théorique de table 2*2 est inférieur à 5). Par la suite, les variables présentant une significativité statistique modérée ($p \leq 0,20$) dans l'analyse précédente, ont été incluses dans un modèle multivarié de régression logistique.

Les données ont été organisées dans des tableaux croisés et présentées graphiquement par l'utilisation du logiciel Microsoft Excel 2016. L'analyse statistique s'est effectuée à l'aide du logiciel : SPSS 26.

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

Dans cette étape, nous avons utilisé simultanément les résultats de trois tests (protocole standard et modifié du TRB et le test SAW). Les résultats des 124 patients, obtenus par les trois tests étudiés doivent être combinés 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'individus 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 ; Li *et al.*, 2018).

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 » $P(T_1^+ | M_1^-)$ (Fig. 20).

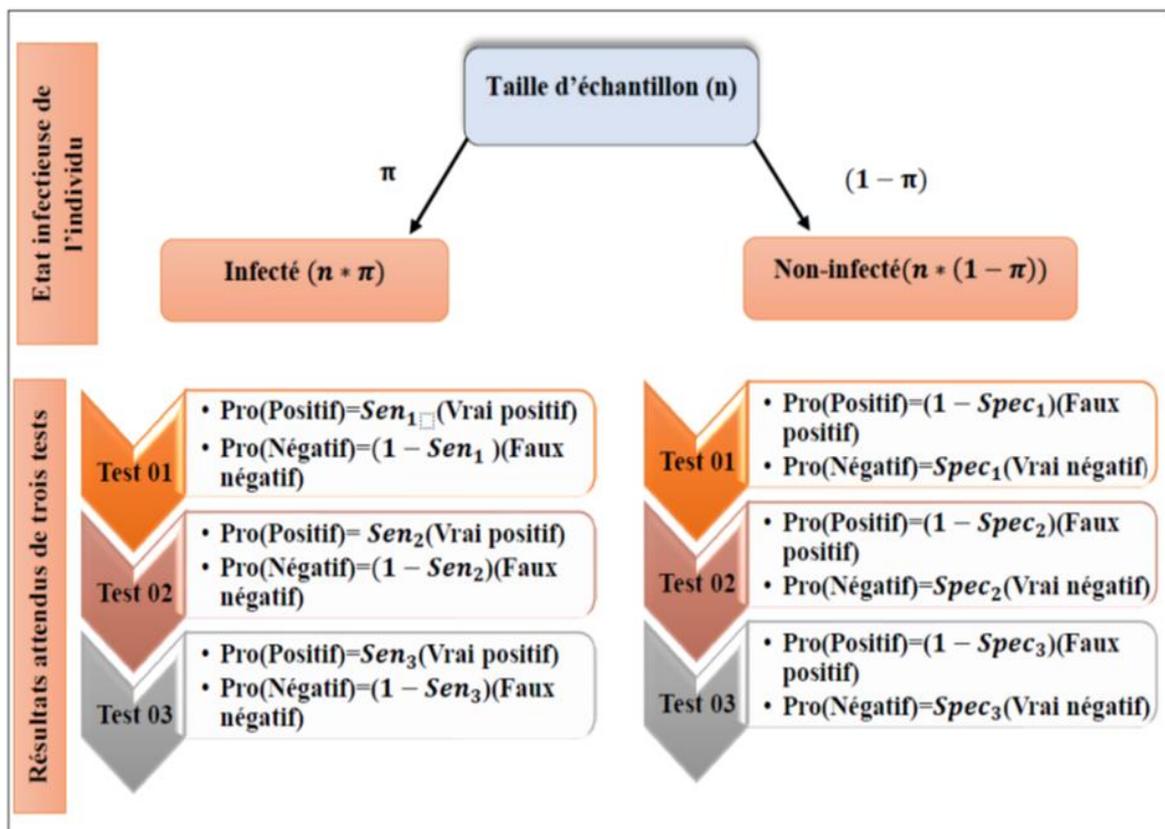


Figure 20: Résultats attendus pour les trois tests utilisés

A l'aide de la formule de Bayes (Bayes., 1763)(JEAN BAPTISTE and HIRIART URRUTY 2018), les probabilités de survenue d'un résultat positif ou d'un résultat négatif peuvent être écrites comme des fonctions des caractéristiques intrinsèques du test (**Se1** et **Sp1**) et de la prévalence de la maladie au sein du groupe étudié (*prev*)

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

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

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

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

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

Les probabilités d'obtenir un résultat positif ou négatif au deuxième et troisième test (**T2** et **T3**) sont définies de même manière :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$$P(T_1^+; T_2^+; T_3^+) = prevSe_1Se_2Se_3 + (1 - prev)(1 - Sp_1)(1 - Sp_2)(1 - Sp_3)$$

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.

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

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

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

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

2. Résultats

2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente

Les analyses sérologiques des 124 sérums par les trois essais ont présenté une accordance totale entre les résultats obtenus par les deux essais du TRB (standard et modifié), dont 69 sérums étaient positifs, soit un taux de séroprévalence apparente de 55.65% (IC 95% : 46.90 – 64.39) (Fig. 21 - A), et 55 prélèvements ont été testés négatifs. Cependant ; uniquement 39 sérums ont été testés positifs par le test SAW, soit un taux de séroprévalence apparente de 31.45% (IC 95% : 28.86 – 49.13), et 85 sérums ont été testés négatifs par ce test (Fig. 21 - B).

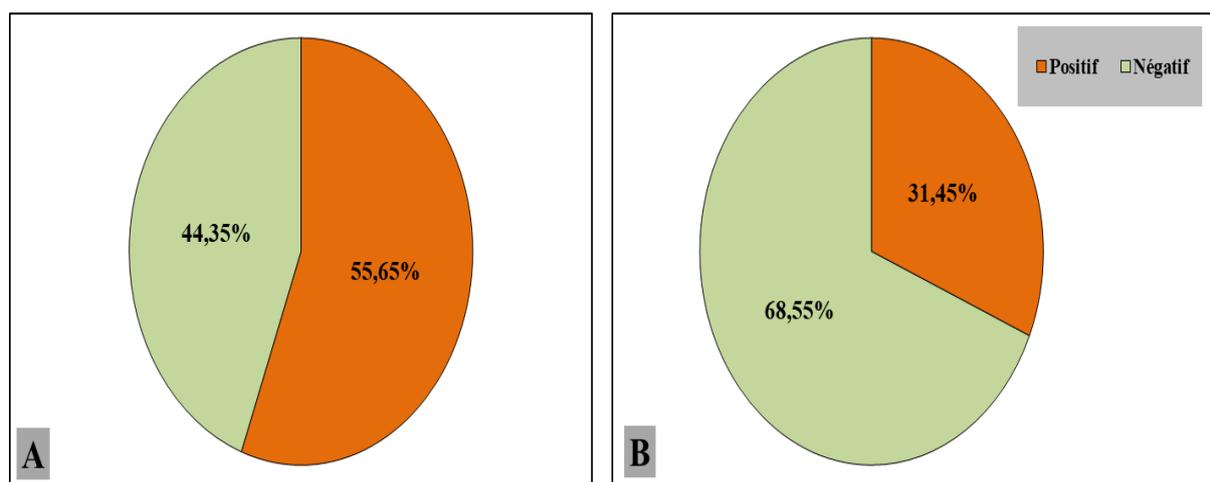


Figure 21 : Taux de séroprévalence apparente par le TRB (A) et SAW (B)

Le **tableau 6** présente la distribution des cas échantillonnés et testés séropositifs (par le TRB) dans cinq communes dont lesquelles l'étude a été menée. Le taux de séropositivité le plus élevé a été observé dans la commune de Bir mokadem et le taux le plus bas a été signalé dans la commune de Bekkaria.

Tableau 6: Distribution des cas dans les communes

Communes	Nombre de cas testé	Nombre de cas séropositifs (%)
Bakaria	4	1 (25)
Bir mekadem	10	7 (70)
Chéria	78	46 (58,97)
Hammamet	9	5 (55,56)
Tébessa	23	10 (43,48)

2.2. Résultats de modèle d'analyse des classe latentes

Les trois tests utilisés sont appliqués en parallèle sur les 124 patients, les résultats sont binaires (Positif/Négatif), dans lequel la prévalence réelle de la maladie est inconnue.

La combinaison des résultats de trois tests utilisés (Les deux essais du TRB et SAW) a montré que 35 patients ont été positifs par les trois tests, 51 patients ont été négatifs par les trois tests, 4 patients ont été positifs par le test SAW et négatifs par les deux essais de TRB,

et 34 patients testés négatifs par le test SAW et testés positifs par les deux essais du TRB (Tab. 7).

Tableau 7: Combinaison des résultats croisée du Test Wright, Test RB (protocole standard) et Test RB (notre essai)

	TRB (Protocole standard)	TRBm (Protocole modifié)	SAW	Nombre des cas
	Positif	Positif	Positif	35
	Négatif	Positif	Positif	00
	Positif	Négatif	Positif	00
	Négatif	Négatif	Positif	04
	Positif	Positif	Négatif	34
	Positif	Négatif	Négatif	00
	Négatif	Positif	Négatif	00
	Négatif	Négatif	Négatif	51
Nombre des cas positifs	69	69	39	124
Nombre des cas négatifs	55	55	85	
Total				

A l'aide de l'outil Web (<http://mice.tropmedres.ac>) et en introduisant les résultats obtenus par les trois tests utilisés (Tab. 7), il est possible de calculer les sept paramètres de ce modèle multinomial (Prévalence réelle, Sensibilité et Spécificité de chacun des trois tests utilisés), et il permet de calculer la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) de chaque test (Tab. 8).

Le modèle statistique basé sur le théorème de Bayes, a donné un taux de prévalence réelle de 55.7% (IC 95% : 46.9 – 64.2). Ainsi, ce modèle présente que le test le plus sensible et le plus spécifique parmi les deux tests est le test de Rose Bengale, comptant les deux essais (Se = 99.7% ; IC 95% : 96.4 – 100 et Sp = 99.6 ; IC 95% : 95.6 – 100), avec des valeurs extrinsèques élevées (VPP = 99.7 % ; IC 95% : 96.5 – 100 et VPN = 99.6 % ; IC 95% : 95.5 – 100).

Le test SAW a donné des valeurs de sensibilité et VPN faibles (Se = 50.6% ; IC 95% : 38.9 – 62.6 et VPN = 59.9 % ; IC 95% : 48.8 – 70.0). Ce test a présenté également des valeurs de

spécificité et VPP modérés par rapport aux résultats du TRB (Sp = 99.6 % ; IC 95% : 95.6 – 100 et VPP = 89.3 % ; IC 95% : 77.5 – 96.4).

Tableau 8: Paramètres calculés par le modèle d'analyse de classes latentes par approches bayésiennes

	RB	RB2	Wright
Prévalence réelle (%)	55.7 (46.9 - 64.2)		
Sensibilité (%)	99.7 (96.4 - 100)	99.7 (96.4 - 100)	50.6 (38.9 - 62.6)
Spécificité (%)	99.6 (95.6 - 100)	99.6 (95.6 - 100)	92.4 (83.7 - 97.5)
VPP (%)	99.7 (96.5 - 100)	99.7 (96.5 - 100)	89.3 (77.5 - 96.4)
VPN (%)	99.6 (95.5 - 100)	99.6 (95.4 - 100)	59.9 (48.8 - 70.0)

2.3. Distribution des résultats selon les facteurs de risque putatifs

2.3.1. Distribution des cas selon le sexe

Pour les 124 sérums testés ; 39 sérums ont été séropositifs (59.09 %) parmi les 66 sérums testés du sexe féminin. Cependant, 30 sujets testés positifs (51.72 %) parmi les 58 sérums du sexe masculin (Tab. 09 et Fig. 21-A).

Tableau 9: Distribution des cas selon le sexe

Sexe	Femme	Homme
Nombre d cas testés	66	58
Nombre de cas positifs (%)	39 (59.09)	30 (51.72)

2.3.2. Distribution des cas selon le milieu d'habitation

Pour les 124 individus testés, on a trouvé que 87 individus résident dans un milieu urbain, dont 49 cas ont été séropositifs (56,32%), et 38 cas sont négatifs. Cependant, 20 individus testés positifs (54,05%) parmi les 37 individus résidant dans un milieu rural (Tab. 10 et Fig. 21-B).

Tableau 10: Distribution des cas selon le milieu d'habitation

Milieu d'habitation	Urbain	Rural
Nombre des cas testés	87	37
Nombre des cas positifs (%)	49 (56.32)	20 (54.05)

2.3.3. Distribution des cas selon l'âge

Au cours de l'étude, nous avons interrogé et analysé les sérums de 124 sujets habitant la wilaya de Tébessa. Après avoir divisé l'échantillon en 4 classes d'âge (**classe 1 : [14-25[** ; (**classe 2 : [25-40[** ; (**classe 3 : [40-70[** ; (**classe 4 : ≥ 70**) ; il ressort de notre résultat que (**Tableau 11& Fig 21.C**) :

Tableau 11: Distribution des cas selon l'âge

Classe d'âge (ans)	[14-25[[25-40[[40-70[≥ 70
Nombre des cas testés	10	37	62	15
Nombre des cas positifs (%)	6 (60)	13 (35.16)	39 (62.9)	11 (73.33)

2.3.4. Distribution des cas selon le traitement

Pour les 75 sérums des malades testés ; 39 sérums des cas ont reçu un traitement. Il repose avant tout sur l'antibiothérapie (**DOXYCLINE, RIFAMPICINE, STREPTOMYCINE, TRIMETHOPRIM** et **SULFAMETHOXAZOLE (TMP-SMX) (BACTRIM ET GENTAMICINE)**), dont 37 des cas ont été séropositifs (94.87) et 2 sujets testés négatifs (5.13%). Par contre, parmi 36 cas non traitée, 30 des cas positifs ont été séropositives (83.33%) et 6 cas ont été séronégatifs (16,67%) (**Tableau 12& Fig 21.D**).

Tableau 12: Distribution des cas selon le traitement

Traitement	Oui	Non
Nombre des cas testés	39	36
Nombre des cas positifs (%)	37 (94.87)	30 (83.33)

2.3.5. Distribution des cas selon la présence des signes cliniques

Pour les 124 sérums testés ; 75 sérums des cas sont considérés des malades après l'examen clinique, dont 67 cas ont été séropositifs (89,33%). Par contre, parmi 49 cas qui ne présentent pas des signes cliniques (Non- malade), deux cas ont été testés positifs (4,08%) (**Tableau 13 & Fig 21. D**).

Tableau 13: Distribution des cas selon la présence des signes cliniques

Examen clinique	Malade	Non malade
Nombre des cas testés	75	49
Nombre des cas positifs (%)	67 (89,33)	2 (4,08)

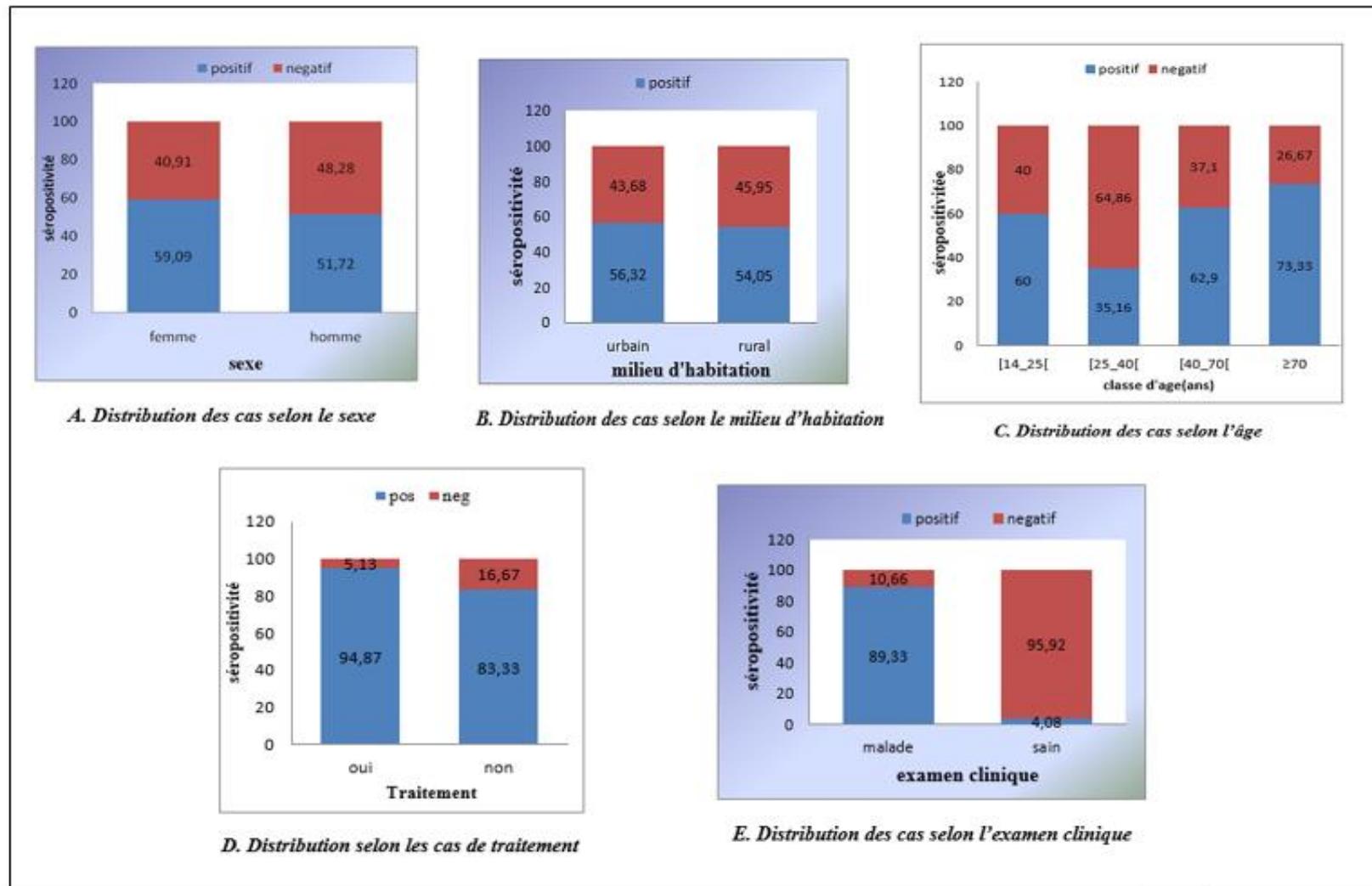


Figure 22 : Distribution des résultats selon les facteurs d risque étudiés

2.4. Analyse statistique

L'analyse univariante a révélé que parmi les cinq facteurs de risque putatifs (Sexe, Âge, Milieu d'habitation, Examen clinique et Traitement), trois variables (Age, Examen clinique et Traitement) ont une valeur p inférieure à 0.2 (**Tab. 14**). Ces trois variables sont incluses pour l'analyse multivariante

Tableau 14: Résultats d'analyse univariante par le test khi-deux

Variabiles	Catégorie	Nombre des cas testés	Nombre des cas positifs (%)	Valeur p
1- Sexe	Femme	66	39 (59,09)	0.26
	Homme	58	30 (51,72)	
2- Milieu d'habitation	Urbain	87	49 (56,32)	0.485
	Rural	37	20 (54,05)	
3- Age	Classe 1	10	6 (60)	0.023 (Exact Fischer)
	Classe 2	37	13 (35,14)	
	Classe 3	62	39 (62,90)	
	Classe 4	15	11 (73,33)	
4- Traitement	Oui	39	37 (94,87)	0.000
	Non	36	30 (83,33)	
5- Examen clinique	Malade	75	67 (89,33)	0.000
	Sain	49	2 (4,08)	

Le modèle de régression logistique multivariante a révélé que seulement le facteur : **Examen clinique** est associé significativement avec la séropositivité individuelle ($p = 0.000$, OR = 151.263) (**Tab. 15**).

Tableau 15: Résultats de modèle de régression logistique multiple

Variable(s)	OR ajusté	IC _{95%} OR	Valeur p
Examens cliniques			
• Sain	1.00 (référence)		
• Malade	151.263	29.207-783.386	0.000
Age			
• Class 4	1.00 (référence)		
• Class 1	2.771	0.108-71.073	0.538
• Class 2	0.763	0.78-7.437	0.816
• Class 3	1.259	0.156-10.170	0.829
Traitement			
• Non	1.00 (référence)		
• Oui	2.708	0.601-12.05	0.195

3. Discussion

La brucellose est une maladie zoonotique majeure hautement contagieuse et malgré de nombreux efforts pour la contrôler et l'éradiquer, elle est toujours considérée comme l'une des zoonoses les plus répandues dans le monde.

Dans cette étude transversale, nous avons évalué la présence des anticorps anti-*Brucella spp.* chez l'Homme dans la région de Tébessa, via l'utilisation de deux tests sérologiques : SAW et TRB (avec deux protocoles, l'un standard et l'autre modifié). La combinaison des résultats de test sérologiques dans modèle mathématique a donné un taux de prévalence réelle de 55.7%. Cependant, les taux de prévalence apparente signalés sont : 55.65% et 31.45% par les TRB et SAW respectivement. Nous avons signalé au moins un cas séropositif dans les cinq communes d'étude ; ce qui signifie une distribution importante de cette bactérie chez l'être humaine dans la région d'étude. Le taux mentionné dans notre étude est supérieur au taux trouvé par (Remiki *et al.*, 2022) (34.43%) en étude réalisée dans la même région et effectuée sur un effectif de 488 sérums via l'utilisation du TRB. Ce taux a également été supérieur aux taux trouvés dans une étude menée par Azza *et al.*, 2017 dans la wilaya de Bouira (32.8%), à celle de Fatima Zohra & Samah., 2021 dans la wilaya de Ghardaia (28.97%) et aussi à celle de Mghezzi., 2021 dans la wilaya de Biskra (8.81%). Par contre, il est inférieur au taux de Amina et Fatima, 2016) (58%) dans la wilaya M'sila.

Les variations de taux de prévalence trouvés dans différentes études, peuvent résider dans le fait que ce résultat peut être justifié au fait de contexte de l'étude ; était différent d'une étude à une autre. Cette différence serait plus ou moins liée premièrement à la méthodologie utilisée dans le protocole de recherche, à savoir le type et le nombre de tests utilisés pour le diagnostic, le schéma adopté en série ou en parallèle, la taille et la procédure d'échantillonnage. Deuxièmement, cette différence pourrait être due à l'évolution de la maladie et la région d'étude.

Le résultat de cette étude montre que les communes de Chéria et Tébessa représentent le nombre des cas le plus élevé de brucellose humaine parmi les 5 communes de l'étude, on trouve 78 cas et 23 cas respectivement dans les deux communes ci-dessus signalées. Cela peut être justifié par l'activité socio-économique exercée par les citoyens de la commune de Chéria, elle a été considérée comme une zone d'élevage, notamment des petits ruminants (sources potentielles de contamination humaine). Par contre le nombre élevé des cas brucelliques dans

la commune de Tébessa, chef-lieu de wilaya, probablement due au mouvement de gens qui peuvent être infectés provenant d'autres communes.

L'analyse statistique des facteurs de risque a montré que l'examen clinique est significativement associé avec la séroposivité individuelle, les individus qui présentent des signes cliniques spécifique (Fièvre, Arthralgies et Sueurs nocturnes) ont OR = 151,263 de chance d'être séropositif que les individus qui ne présentent pas des signes cliniques ; cela indique l'accordance entre l'examen clinique et les résultats des tests biologiques en médecine humaine.

Le test RB est le test de routine le plus fréquemment utilisé pour le diagnostic de la brucellose. Le test RB et test Wright sont facile, rapide. Test RB a de faibles taux de fausses positivités et est donc couramment utilisé, en particulier pour le diagnostic de la brucellose aiguë. Cependant, ce test a perdu de son importance dans les cas de pH bas puisque les IgM et IgG ont perdu leurs capacités d'agglutination, les patients chroniques à faible taux d'anticorps et les patients exposés au travail. Chez les patients ayant des antécédents de maladie chronique, le test Rose Bengal n'est pas fiable, par conséquent, des tests tels que les tests d'agglutination en tube standard (agglutination de Wright, SAT) doivent être effectués.

Le test RB est spécifique des anticorps *Brucella* (ce qui réduit le risque de faux positif) et a une haute sensibilité (donc une détection précoce de l'infection). Par contre, les tests SAW peuvent présenter une sensibilité et une spécificité variables selon les souches de *Brucella* et les conditions de test, ce qui peut conduire à des faux positifs ou des faux négatifs. En termes de coût, le test Wright est moins cher que le test RB.

Conclusion

Le taux de séropositivité pour la brucellose obtenue au cours de notre étude était de 55,65% ; les cas séropositifs étaient répartis dans 5 communes ; cela implique une répartition géographique importante de la brucellose humaine dans la province de Tébessa. Par conséquent, l'analyse des facteurs de risque a montré que l'examen clinique et les facteurs de traitement étaient significativement associés à la séropositivité.

Les résidents de la région doivent être sensibilisés aux risques liés à la consommation de produits laitiers non pasteurisés d'origine inconnue. Les éleveurs doivent donc être conscients du risque de contamination croisée entre caprins, ovins et bovins.

Sur la base de cette étude, il apparaît que des études de suivi plus robustes (taille d'échantillon plus importante, répartition de l'échantillon dans toutes les communes de la wilaya, analyse plus approfondie des facteurs de risque, notamment des études visant à étudier l'épidémiologie) de cet effet chez les animaux semblent avoir été réalisées, source potentielle de brucellose humaine), afin de mieux estimer le risque de brucellose humaine dans la province de Tébessa

Références bibliographiques

- Aljanazreh, Bessan, Khaled Alzatari, Asmaa Tamimi, Mohammad H. Alsaafeen, and Yaqoub Ashhab. 2022.** “Human Brucellosis in the Southern West Bank, 2015–17: A Seroprevalence and Molecular Characterisation Study.” *The Lancet* 399: S36. doi: 10.1016/s0140-6736(22)01171-0.
- Anon. n.d. “Brucellose: Définition - Glossaire Médical | Elsan.” Retrieved May 16, 2023** (<https://www.elsan.care/fr/pathologie-et-traitement/glossaire-medical/medecine-generale-et-interne/brucellose>).
- ANSES. 2011.** *Maladie Animale Zoonotique à Transmission Alimentaire Ou Par Exposition Aux Animaux Infectés Ou à Leurs Produits Brucelloses.*
- ANSES. 2014a.** *Caractéristiques et Sources de Brucella.*
- ANSES. 2014b.** *Caractéristiques et Sources de Brucella.*
- Berkvens, Dirk, Niko Speybroeck, Nicolas Praet, Amel Adel, and Emmanuel Lesaffre. 2006.** “Estimating Disease Prevalence in a Bayesian Framework Using Probabilistic Constraints.” *Epidemiology* 17(2):145–53. doi: 10.1097/01.ede.0000198422.64801.8d.
- Bio-Rad. 2014.** *BRUCELLA WRIGHT.* Mrnes-la-Coquette France.
- Blasco J.M., Garin-Bastuji B., Marín C., Gerbier G., Fanlo J., Jiménez De Bagués M., Cau C.,** Efficacy of different Rose Bengal and Complement Fixation antigens for the diagnosis of *Brucella melitensis* in sheep and goats, *Vet. Rec.* 134 (1994) 415-420.
- Blasco J.M., Marín C., Jiménez De Bagués M., Barberán M., Hernández A., Molina L., Velasco J., Díaz R., Moriyón I.,** Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection in sheep, *J. Clin. Microbiol.* 32 (1994) 1835-1840.
- BOUFERKAS Yasmina, and FELLATI Abdellah. 2018.** “Etude Rétrospective de La Brucellose Humaine En Algérie.” Institut des sciences Vétérinaires, Blida.
- BOUHRAOUA, Chahla, Firdaws BRAHMIA, and Dhrifa OULDKHALED. 2021.** “ETUDE STATISTIQUE RETROSPECTIVE SUR L’eVoLution de LA BruCeLLose Au NiVeAu de LA WiLayA d’ouM EL Bouaghi Durant La Dernière

Décennie.” Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Oum el Bouaghi.

Chakroun M, and Bouzouaia N. 2007. “La Brucellose: Une Zoonose Toujours d’actualité.” *RTI* 1(2):1–10.

Dr BENSADOUN. 2020. “LA BRUCELLOSE.” Faculté d’Oran CHU Oran, ORAN.

Dr GUENIFI. n.d. “Brucellose.” *COURS*.

DRIF Amina, and SERHANE Fatima. 2016. “L’impact de La Brucellose Bovine Sur l’économie et La Santé Publique.” Faculté des sciences, M’sila.

Eurofins Biomis. 2018. *RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES BIOPATHOLOGIE ET INDICATIONS DEFINITION METHODES DE DIAGNOSTIC.*

Ferreira, Ana, Regina Cardoso, Isabel Dias, Isabel Mariano, Ana Belo, Isabel Preto, António Manteigas, Ana Cristina Ferreira, Isabel Travassos Dias, Isabel Rolão Preto, António Pina Fonseca, Maria Inácia, and Corrêa De Sá. 2003. “Evaluation of a Modified Rose Bengal Test and an Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of *Brucella Melitensis* Infection in Sheep.” *Veterinary Research* 34(3):297–305. doi: 10.1051/vetres:2003005i.

FREYCON Pauline. 2015. “ROLE DU BOUQUETIN CAPRA IBEX DANS L’EPIDEMIOLOGIE DE LA BRUCELLOSE A BRUCELLA MELITENSIS EN HAUTE SAVOIE.” *VETARGO SUP*, Lyon.

Ben Gaid, Fatima Zohra, and Samah Fatima Zahra Ben Krid. 2021. “LA BRUCELLOSE ANIMALE ET HUMAINE AU NIVEAU DE LA RÉGION DE GHARDAÏA : ÉTAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES.” Mémoire présenté en vue de l’obtention du diplôme de MASTER, Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, GHARDAIA.

GUERNINE, Iness, Sana BENHAROUN, and Ahlem ZEMALI. 2020. “Epidémiologie de La Brucellose Dans La Wilaya de Guelma.” Faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l’univers, Guelma.

Janbon F, and Maurin M. 2005. *Brucellose*.

JEAN BAPTISTE, and HIRIART URRUTY. 2018. *BAYES-OPTIMALITE-WEB23*.

- Remiki, Kawther, Soltani Donia, and Zairi Rofaida. 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.” Mémoire de Master, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Tébessa.
- KOUIDRI, Regaia, and Sara MANARI. 2008.** *La Prévalence de La Brucellose Dans La Wilaya de M’sila (2000-2008)*. Msila.
- Li, Yuelin, Jennifer Lord-Bessen, Mariya Shiyko, and Rebecca Loeb. 2018.** “Bayesian Latent Class Analysis Tutorial.” *Multivariate Behavioral Research* 53(3):430–51. doi: 10.1080/00273171.2018.1428892.
- Mariam Traore. 2018.** “***** Intérêt Du Diagnostic Moléculaire Des Pathogènes Intracellulaires : Cas de La Brucellose et de La Toxoplasmose à Bamako. REPUBLIQUE DU MALI.” Université des sciences, des techniques, des technologies de Bamako, Bamako.
- Maurin, M. 2005.** “Brucellosis at the Dawn of the 21st Century.” *Medecine et Maladies Infectieuses* 35(1):6–16.
- M.Chakroun, and N.Bouzouaia. n.d.** “La Brucellose: Une Zoonose Toujours d’actualité.” *RTI Revue Générale*.
- MECHERI R, and CHEBAIKI M. 2022.** “Utilisation de Test Séro-Agglutination de Wright Pour Détecter Les Anticorps Anti-Brucella Spp. Chez l’Homme Dans La Région de Tébessa.” mémoire de master, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Tébessa.
- Olsen, S. C., and B. Bricker. 1996.** “Brucella.” *Laboratory Models for Foodborne Infections* 259–69. doi: 10.1201/9781315120089-17.
- Pierre, Aubry, and Gauzère Bernard-Alex. 2022.** “Brucellose.” *MEDECINE TROPICALE*.
- Sahraoui H, Souici A, and Salhi R. 2022.** “Etude Sérologique de Brucella Spp à l’échelle Du Nord-Est Algérien.” Mémoire de master, Université frères Mentouri .Constantine 1 Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine