



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tebessa.



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Utilisation de la technique de séro – agglutination de
Wright pour dépister les anti corps anti – *Brucella* spp.
chez l'espèce ovine dans la region de Tébessa**

Présenté par :

BENAISSA Aya

CHENATLIA Takoua

Devant le jury :

M. Zouaoui Nassim

MCB

Université de Tébessa

Président

M. BENLAKEHAL Amar

MAA

Université de Tébessa

Rapporteur

M. MENASRIA Taha

MCB

Université de Tébessa

Examineur

Date de soutenance : 07-06-2021

Note :

Mention :

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans

l'aide et l'encadrement de notre promoteur Dr. BENLAKHEL Ammar, Nous le remercions pour toute sa patience et sa disponibilité dont il a fait preuve à notre égard. Ses conseils et remarques constructives nous ont permis d'améliorer grandement la qualité de notre travail et de notre mémoire. Nous tenons à lui

exprimer nos remerciements pour l'honneur qu'il nous fait en participant à ce jury.

Nous sommes conscients de l'honneur que nous a fait Dr. ZOUAOUI Nassim en étant

président du jury et Dr. MENASRIA Taha d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenues de près ou de loin.

Dédicace

A ma source de mes efforts, la lumière de mes jours, ma vie et mon bonheur ; Maman
que j'adore.

A toi Mon père qui toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son
vaste paradis.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour.

A mes chères sœurs Imen, Ines et mon petit frère Abdou que je vous aime.

A toute la famille BENAÏSSA et la famille NASRI.

Je dédie ce travail au personne qui était toujours à mes côtés, qui m'a toujours
encouragé.

Aux qui m'ont accompagné durant mon chemin, mes aimables amies Ahlem
,Nourhene, Israa, Djamila, Hadjer et Manel, mes amies d'enfance Rahma, Hanin, Hala
et Sabina, mes collègue d'étude.

A ma binôme Takoua et toute sa famille.

Aya

Dédicace

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience.

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère : la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Ma grande sœur et mes frères : Maha, Hichem et Aïmen : vous êtes un cadeau du ciel.

Je vous remercie pour votre support, vos dévouements et indéfectible soutien, je vous dédie ce travail pour tous les moments qu'on a pu partager ensemble. Que dieu le tout puissant puisse vous préserver du mal, vous combler de sante et de bonheur.

Mon fiançait : merci pour ton soutien et pour ta présence dans ma vie Quoique je dise je ne saurais exprimer l'amour que j'ai pour toi, que Dieu te garde pour moi.

Toute la famille Mérabti : mes tantes et oncles, leurs époux et épouses, mes cousins et ma cousine ASSALA Que ce travail soit le témoin de toute mon affection et mon attachement.

Un grand dédicace a toute la famille Bekkouche surtout ma mère Sabah, mon père Mouhamed Cherif et mes grandes sœurs Hassina et Souad

Tous mes copines : surtout Donia, Israa , Roumaïssa , Djamilla ,Abir , Hanen, Wided

Nous avons partagé les bons et les mauvais moments durant toute la période d'étude, que notre amitié puisse durer éternellement merci pour tous vos encouragements.

A ma chère binôme Aya et toute la famille benaïssa

Takoua

Résumé

La Brucellose est une Anthropozoonose très contagieuse et l'une des zoonoses majeures les plus répandues dans le monde. Due à une bactérie du genre *Brucella*, elle provoque des avortements et de l'infertilité chez les ruminants infectés.

Dans cette étude nous avons utilisés les prélèvements d'une étude transversale précédente réalisée entre Septembre 2015 à Octobre 2017. Un total de 357 prélèvements sanguins provenant de 38 troupeaux d'élevage privés, ont été testés par le test séro-agglutination de Wright (SAW), pour détecter les anticorps anti - *Brucella* spp. Chez l'espèce ovine dans la région de Tébessa.

Les résultats obtenus ont montré un taux de séroprévalence individuelle de 5.32% (IC 95% : 2,99% – 7,65%). Ainsi, 12 troupeaux ont au moins un cas séropositif. L'analyse statistique a montré que le facteur présence d'avortement en dernière gestation (OR=2,913 ; IC 95% : 1.07 – 7.89 ; $p=0,036$) est considéré comme un facteur de risque pour la séropositivité individuelle ; alors que, le facteur présence des chèvres en même élevage avec les brebis est considéré comme facteur protectif (OR=0,274 ; IC 95% : 0.10 – 0.73 ; $p=0,01$). La méthode semi quantitative a montré que le titre des anticorps est de 1/320 chez deux cas, et 1/160 chez trois cas. En outre, nos résultats donne une accordance équitable ($\kappa = 0.332$; $p = 0.00$) entre les résultats des deux tests (SAW et l'ELISA).

Cette étude a dépisté par un test indirect, la présence de germe *Brucella* spp. chez l'espèce ovine dans la région d'étude. Chose qui pose un véritable problème de santé publique, surtout avec les cas de brucellose humaine signalé chaque année dans la wilaya de Tébessa.

Le meilleur moyen de lutte est préventif ; en premier lieu le dépistage et l'abattage systématique d'un animal séropositif après une confirmation avec un test plus spécifique, avec la vaccination de l'animal sain. La vulgarisation et la sensibilisation des citoyens pour prendre les mesures hygiéniques, et d'éviter la consommation des produits laitiers non pasteurisés et d'origine inconnu

Mots clés : Anthropozoonose. *Brucella* spp. Ovine. Test séro-agglutination de Wright. Tébessa

Abstract

Brucellosis is a highly contagious Anthroozoonosis and one of the most responded to major zoonoses in the world. Due to a bacterium of the genus *Brucella*. It causes abortions and infertility in infected ruminants.

In this study we used samples from a previous cross-sectional study carried out between September 2015 to October 2017. A total of 357 blood samples from 38 private breeding herds were tested by Wright's seroagglutination test (SAW), to detect anti - *Brucella* spp. In the ovine species in the Tébessa region.

The results obtained showed an individual seroprevalence rate of 5.32% (95% CI: 2.99% - 7.65%). Thus, 12 herds have at least one seropositive case. Statistical analysis showed that the factor of late pregnancy abortion (OR = 2.913; 95% CI: 1.07 - 7.89; p = 0.036) is considered to be a risk factor for individual seropositivity; whereas, the factor for the presence of goats in the same farm with the ewes is considered as a protective factor (OR = 0.274; 95% CI: 0.10 - 0.73; p = 0.01). The semi-quantitative method has shown that the antibody titre is 1/320 in two cases, and 1/160 in three cases. In addition, our results give a fair agreement ($\kappa = 0.332$; p = 0.00) between the results of the two tests (SAW and ELISA).

This study detected by an indirect technique the presence of the germ *Brucella* spp. in the ovine species in the study region. Something that poses a real public health problem, especially with the cases of human brucellosis reported each year in the wilaya of Tébessa.

The best way to fight is preventive; firstly the screening and systematic slaughter of an HIV-positive animal after confirmation with a more specific test, with the vaccination of the healthy animal. Popularization and sensitization of citizens to take hygienic measures, and avoid the consumption of unpasteurized dairy products of unknown origin

Keywords: Anthroozoonosis. *Brucella* spp. Sheep. Wright's seroagglutination test. Tébessa

ملخص

ملخص

الحمى المالطية (البروسيلات) هو مرض شديد العدوى من داء الأنثروبوزونات وواحد من أكثر الأمراض حيوانية المصدر استجابة للأمراض الحيوانية المنشأ الرئيسية في العالم. بسبب بكتيريا من جنس البروسيلات ، تسبب الإجهاض والعقم في المجترات المصابة.

في هذه الدراسة ، استخدمنا عينات من دراسة مقطعية سابقة أجريت بين سبتمبر 2015 وأكتوبر 2017. تم اختبار ما مجموعه 357 عينة دم من 38 قطيعًا خاصًا من خلال اختبار التراص المصلي (SAW) الذي أجراه رايت للكشف عن مضادات البروسيلات. في أنواع الأغنام في منطقة تبسة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن معدل الانتشار المصلي الفردي 5.32% (95% CI: 2.99 - 7.65%). وبالتالي ، فإن 12 قطيعًا لديها حالة إصابة مصلية واحدة على الأقل. أظهر التحليل الإحصائي أن عامل إجهاض الحمل المتأخر (نسبة الأرجحية = 2.913 ؛ مجال الموثوقية 95%: 1.07 - 7.89 ؛ $E = 0.036$) يعتبر عامل خطر للإيجابية المصلية الفردية ؛ في حين أن عامل تواجد الماعز في نفس المزرعة مع النعاج يعتبر عامل وقائي (نسبة الأرجحية = 0.274 ؛ فاصل الثقة 95%: 0.10 - 0.73 ؛ $E = 0.01$). أظهرت الطريقة شبه الكمية أن عيار الجسم المضاد هو 320/1 في حالتين ، و 160/1 في ثلاث حالات. بالإضافة إلى ذلك ، تعطي نتائجنا اتفاقًا عادلًا ($p = 0.00$ ؛ $\kappa = 0.332$) بين نتائج الاختبارين (SAW و ELISA).

كشفت هذه الدراسة بطريقة غير مباشرة عن وجود جرثومة البروسيلات. في أنواع الأغنام في منطقة الدراسة. شيء يمثل مشكلة حقيقية للصحة العامة ، خاصة مع حالات الإصابة بداء البروسيلات البشرية التي يتم الإبلاغ عنها كل عام في ولاية تبسة.

أفضل طريقة للقتال وقائية ؛ أولاً ، الفحص والذبح المنتظم لحيوان مصاب بفيروس نقص المناعة البشرية بعد التأكد من ذلك باختبار أكثر تحديدًا ، مع تطعيم الحيوان السليم. تعميم وتوعية المواطنين لاتخاذ الإجراءات الصحية ، وتجنب استهلاك منتجات الألبان غير المبسترة مجهولة المصدر.

الكلمات الرئيسية: أنثروبوزونوسيس. البروسيلات النيابة. خروف. اختبار التراص المصلي لرايت. تبسة

Liste des figures

- Figure 1 :** Coloration des brucelles (par la méthode ziehl-nielsen modifiée).
- Figure 2 :** Vue au microscope électronique de brucelles isolées de babouins (barre=1 µm).
- Figure 3 :** Types de cellules prédominantes occupées par *brucella abortus* chez l'hôte naturel (bovin) et l'hôte accidentel (humain).
- Figure 4 :** Distribution mondiale de la brucellose caprine.
- Figure 5 :** Incidence de la brucellose a *brucella melitensis* chez les animaux domestiques en Europe durant le premier semestre de 2006.
- Figure 6 :** Principales espèces de *brucella* et hôtes de prédilection.
- Figure 7 :** Placentine nécrosante : utérus en coupe, contenant un exsudat nécrotique fibrineux multifocal à la surface caniculaire (flèche noire), associée à une hémorragie multifocale (flèche bleue).
- Figure 8 :** Glande mammaire de vache infectée expérimentalement par *B. abortus* inflammation interstitielle focale de lymphocytes, de macrophages et de neutrophiles dans la lumière des acini (coloration par l'hématoxine et l'éosine) (50x) bar=100 µm).
- Figure 9 :** Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa.
- Figure 10 :** Coagulation de sang et décantation de sérum.
- Figure 11 :** Sang prélevé après centrifugation.
- Figure 12 :** Contrôle positif et négatif.
- Figure 13 :** Réactif de Wright.
- Figure 14 :** étapes de méthode d'agglutination sur lame.
- Figure 15 :** La présence d'agglutination après 1 min d'agitation d'un échantillon infecté.
- Figure 16 :** Résultats après 24 heures d'incubation.
- Figure 17 :** Tirage des résultats obtenus.
- Figure 18 :** Taux de séroprévalence individuelle et de troupeaux infectés.
- Figure 19 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction d'avortement chez les caprine.
- Figure 20 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction de période de prélèvement.
- Figure 21 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction de présence des chèvres.
- Figure 22 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction de l'âge.
- Figure 23 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction de sexe.
- Figure 24 :** Distribution du taux de séroprévalence en fonction de vaccination anti-brucellique.

Liste des figures

Figure 25 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction d'avortement chez l'espèce caprine.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Réservoirs des espèces de brucella sp. et pathogénicité pour l'homme.

Tableau 2 : Comparaison des principales caractéristiques des brucellosis.

Tableau 3 : Les taux de prévalences signalés dans quelques études publiées dans les dernières années.

Tableau 4 : Résultats de titrage de neuf cas positifs.

Tableau 5 : Résultats d'analyse statistique univariable des facteurs de risqué.

Tableau 6 : Résultats de modèle de régression logistique multivariable.

Tableau 7 : Tableau contingence résultats de deux tests (SAW et ELISA).

Liste des abréviations

FAO : Food and Agriculture Organisation	R : Rough
OMS : Organisation Mondiale de la Santé	S : Smooth
OIE : Organisation Internationale des Epizooties	FC : Fixation du Complément
ARN : Acide Ribonucléique	IFNγ : Interféron γ
ADN : Acide Désoxyribonucléique	PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Patterns
ARNr : Acide Ribonucléique ribosomal	IL-12 : Interleukine-12
RecA : Protéine d' <i>Escherichia coli</i> A	UFC : unité formant colonie
PCR : Polymérase Chain Réaction	HSR : Hyper sensibilité retardée
SNP : Polymorphisme nucléotidique simple	ECA : épreuve cutanée allergique
RFLP : restriction fragment length polymorphism	RT : Ring test
LPS : Lipopolysaccharide	RBT : Rose Bengal test
UV : Ultra violet	TCR : T cell receptor
pH : Acidité	SAT : Séro-Agglutination Test.
RER : Réticulum Endoplasmique Rugueux	SAW : Séro-Agglutination de whrit
T CD4+ : lymphocyte T Cluster de différenciation 4+	Spp : société psychanalytique de paris .
CD8+ : Cluster de différenciation 8+	S-LPS : Lipo-Poly-Saccharide sous forme « smooth ».
CMH : Complexes Majeurs d'histocompatibilité	IC ; intervalle de confiance.
Th1 : Helper de Type 1	ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.
TLR4 : Récepteur toll-like receptor 4	AVSF : Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières.
FcR : Récepteur Fc	BPAT : Buffered Plate Agglutination Test.
Cr3 : Complement receptor 3	DDPP : Direction Départemental de la Protection des Populations.
BCV : <i>Brucella</i> -containing vacuoles	ELISA : Enzyme like Immuno Sorbent Assay.
IgM : Immunoglobuline M	FC/CFT : Complément Fixation Test.
IgG : Immunoglobuline G	MRC : Maladie réputées contagieuses.
IgA : Immunoglobuline A	R-LPS : Lipo-Poly-Saccharide sous forme « rough »
EAT : Epreuve de l'antigène tamponné	OD : Odds ratio
ELISA : Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay	

Table de matière

Introduction	1
Partie bibliographique	
1. Définition de la maladie	2
2. Historique	2
3. Etiologie	3
3.1. L'agent pathogène	3
3.2. Pathogénie	5
4. Epidémiologie	9
4.2. Espèces sensible et réceptives	13
4.3. Impact économique	16
5. Signes cliniques	16
5.1. Brucellose aigue	19
5.2. Brucellose chronique	20
5.3. Lésions macroscopique et microscopiques	20
6. Diagnostic.....	20
6.1. Diagnostic direct.....	20
6.1.1. Polymérase Chain Réaction(PCR)	21
6.1.2. Techniques Bactériologiques (Des et al. 2008)	21
6.2. Diagnostic indirect (Technique sérologiques).....	24
6.2.1. Sero-agglutination de Wright	24
6.2.2. Test rose Bengale	24
6.2.3. Réaction de fixation du complément.....	25
6.2.4. Preuve de l'anneau ou ring-test	26
6.2.5. Fluorescence Polarisation Assay	26
6.3. Testes immunoenzymatiques.....	27
6.3.1. Technique ELISA (Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay)	27
7. Traitement et prophylaxie	28
7.1. Traitement	28
7.2. Prévention.....	28
7.2.1. Prophylaxie sanitaire	29
7.2.2. Prophylaxie médicale	29
7.2.3. Vaccination.....	30
Partie expérimentale	
1. Matériels et Méthode	33
1.1. Présentation générale de la région d'étude	33
1.2. Matériels	35
1.2.1. Période d'étude.....	35
1.2.2. Animaux	35
1.2.3. Prélèvements sanguins	35
1.3. Test sérologique	36
1.3.1. Principe de test de Wright	36
1.3.2. Réactifs.....	36
1.3.3. Matériels nécessaires	37
1.3.4. Mode opératoire.....	37
1.3.4.1. Méthode qualitative (Méthode d'agglutination sur lame)	37
1.3.4.2. Méthode semi-quantitative	38
1.4. Récolte et analyse des données.....	40
1.4.1. Analyse statistique	40
1.4.2. Calcul des taux de prévalence et des intervalles de confiance	40
1.4.3. Test <i>Kappa</i>	41
2. Résultats	42
2.1. Prévalence individuelle apparente	42

Tables de matières

2.2. Taux de troupeau infecté	42
2.3. Distribution des résultats en fonction des facteurs de risque étudiés	42
2.3.1. Facteur présence d'avortement antécédent	42
2.3.2. Facteur de l'année	43
2.3.3. Facteur de présence d'espèce caprine	44
2.3.4. Facteur de catégorie de parité.....	44
2.3.5. Facteur de sexe	45
2.3.6. Vaccination anti-brucellique	46
2.3.7. Facteur d'avortement chez l'espèce caprine	46
2.4. Titrage des anticorps	47
2.5. Analyses statistiques	47
2.6. Comparaison de résultats.....	49
3. Discussion	50
3.1. Interprétation des résultats –Tirage	51
Conclusion	52

Introduction

Introduction

La brucellose est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'homme. Elle est due à des bactéries appartenant au genre *Brucella*. Six espèces (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*) au sein desquelles il existe plusieurs biovars, sont incriminées dans l'infection naturelle de plusieurs espèces animales comme les bovins, les petits ruminants, les porcins, les rongeurs, les carnivores et d'autres mammifères, y compris l'homme. C'est une maladie de répartition mondiale, mais dont l'importance hygiénique et économique est diversement perçue à travers le monde (**A. J. Akakpo et al., 2009**)

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. Le Diagnostic indirect repose sur la détection ou l'augmentation du titre des anticorps spécifique , les tests de diagnostic indirect utilisés dans le diagnostic de la brucellose sont nombreuses, les plus utilisés sont : Sérodiagnostic de Wright (SAW), ELISA et Réaction à l'antigène tamponnée ou test de Rose Bengale (EAT) , ce dernier reste un test peu couteux et applicable sur un grand échelle, basé sur une réaction simple, rapide, sensible et spécifique d'agglutination sur lame en milieu acide tamponné (**Olsen, 2013**).

En Algérie, elle reste endémique posant un problème de santé publique aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Plusieurs cas sont enregistrés tous les ans et déclarés à l'INSP Alger (**Thys et al., 2005**)

Cette étude a été réalisée pour, d'une part (i) dépister la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. dans des sérums ovine dans la région de Tébessa, via l'utilisation de test séro-agglutination de Wright ; et d'autre part (ii) de comparer les résultats obtenus dans cette étude avec celle réalisée sur les mêmes échantillons via la technique ELISA, afin de mesurer l'accord entre les deux tests.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 : La brucellose

1. Définition de la maladie

La brucellose est une maladie fortement pathogène causée par des bactéries du genre *brucella*. Elle est considérée comme la zoonose la plus répandue dans le monde (Thys et al. 2005).

La brucellose est aussi appelée « fièvre ondulante » « fièvre de malte », « fièvre de Gibraltar », « fièvre méditerranéenne » (chez l'homme) « avortement contagieux » « fièvre abortive », « avortement infectieux », « avortement épizootique » (animaux), « maladie de bang » (bovins), « épididymite contagieuse du bélier » (ovins) (MOLTO, 2010).

D'une façon générale, la brucellose ou fièvre de malte ou mélitococcie est une maladie réputée contagieuse et classée sur la liste unique des maladies animales graves de l'organisation mondiale de la santé animale (Adamou, 2014). Cette maladie infectieuse, contagieuse et transmissible, se manifeste habituellement chez les animaux, sur le plan clinique, par des avortements d'où le nom d'avortement épizootique (Adamou, 2014).

2. Historique

La maladie connue aujourd'hui sous le nom de brucellose attira pour la première fois l'attention de médecins militaires britanniques, sous le nom de fièvre méditerranéenne à malte, durant la guerre de Crimée, dans les années 1850 (Bourneet al., 1964) ainsi, la première description clinique fiable de la brucellose est attribuée Aalen Jeffrey Marston 1859, et l'agent causal (nommé initialement micro-coccus *melitensis*) de cette maladie est isolé en 1886 par David Bruce, à partir de rates de militaires décédés de cette maladie à malte. En 1897 Almroth Wright décrit le test diagnostique par séro agglutination en tube. Le rôle de la chèvre comme réservoir de l'agent de la brucellose sur l'île de malte est décrit en 1905 par Themistocles Zammit, bactériologiste maltais. La brucellose ou fièvre de malte est ensuite décrite dans de nombreux autres sites, sous des dénominations variables : fièvre de crime, fièvre de Gibraltar, fièvre de chypre, fièvre de crête, fièvre de Constantinople (Maurin, 2005). En 1917, Alice Evans, bactériologiste américaine, établit la relation entre *micrococcus melitensis* et *Bacillus abortus* et proposa la création du genre *brucella* (et des espèces *Brucella melitensis* et *Brucella abortus*) en l'honneur des travaux de Bruce lemaire, en 1924 précisa les anomalies cytochimiques du liquide cébrospinal (LCS). Roger et Poursines en 1938, publièrent une monographie détaillée de la neurobrucellose.

Synthèse bibliographique

Quatre autres espèces sont ensuite caractérisées : *Brucella suis* en 1914 à partir de produits d'avortement de truies (Sanders, en 1931 rapporta le premier cas de culture de *brucella suis* chez un patient présentant une méningoencéphalite et qui décéda plus tard d'une rupture d'un anévrysme cérébral mycotique, *brucella canis*, en 1966, chez des chiennes de race beagle.

Brucella ovis, en 1953, chez des moutons *brucellaneotomae* chez les rats du désert de l'Utah (Etats-Unis) en 1957. Plus récemment, en 1994, une *Brucella* différente a causé un avortement chez un dauphin en captivité en Californie d'autres souches semblables ont été ensuite isolées chez des dauphins et d'autres mammifères marins (Toubal et al., 2018).

3. Etiologie

3.1. L'agent pathogène

La brucellose est due à une bactérie du genre *Brucella* qui est un coccobacille intracellulaire facultatif gram négatif immobile, non capsulé, sans flagelles et non sporulé.

Il appartient à la classe des alpha-proteobactéries, l'ordre des *rhizobiaceae* et à la famille des *Brucellaceae* (Baldi et Giambartolomei, 2013). C'est un pathogène qui tolère les températures jusqu'à 40°C et un pH optimal de 6,8.

Les brucelles sont cultivées en aérobie stricte et en présence de thionine ; produisent du H₂S et interviennent dans le métabolisme oxydatif en présence de divers substrats. Elles résistent à la décoloration par des acides faibles (ce qui explique l'utilisation de la coloration spéciale notamment celle de Stamp et Machiavello) (Figure 1) (Figure 2).

Les colonies de brucelles apparaissent constantes, rondes, translucides, lisses ou rugueuses et convexes aux contours nets (Adamou, 2014).

Les brucelles sont réparties en six espèces : *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*, *Brucella neotomae* et *Brucella ovis* (Corbel, 2006 ; Naouel et al., n.d.) chaque espèce du genre a une taille moyenne du génome d'environ 3,29 Mo et se compose de deux chromosomes circulaires, le chromosome I, est d'environ en moyenne 2,11 Mo et le chromosome II est d'environ 1,18 Mb. Le contenu G + C de tous les brucella génomes est de 57,2% pour le chromosome I et de 57,3% pour le chromosome II (Seleem et al., 2010).

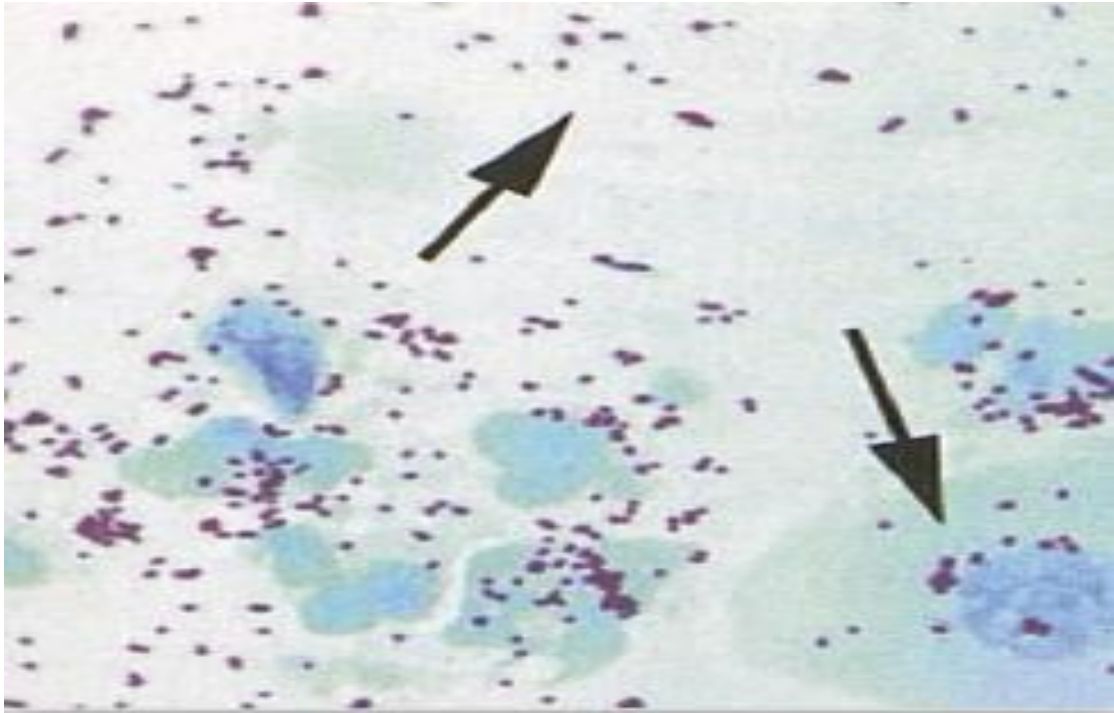


Figure 1 : Coloration des brucelles (par la méthode ziehl-nielsen modifiée (Corbel, 2006)

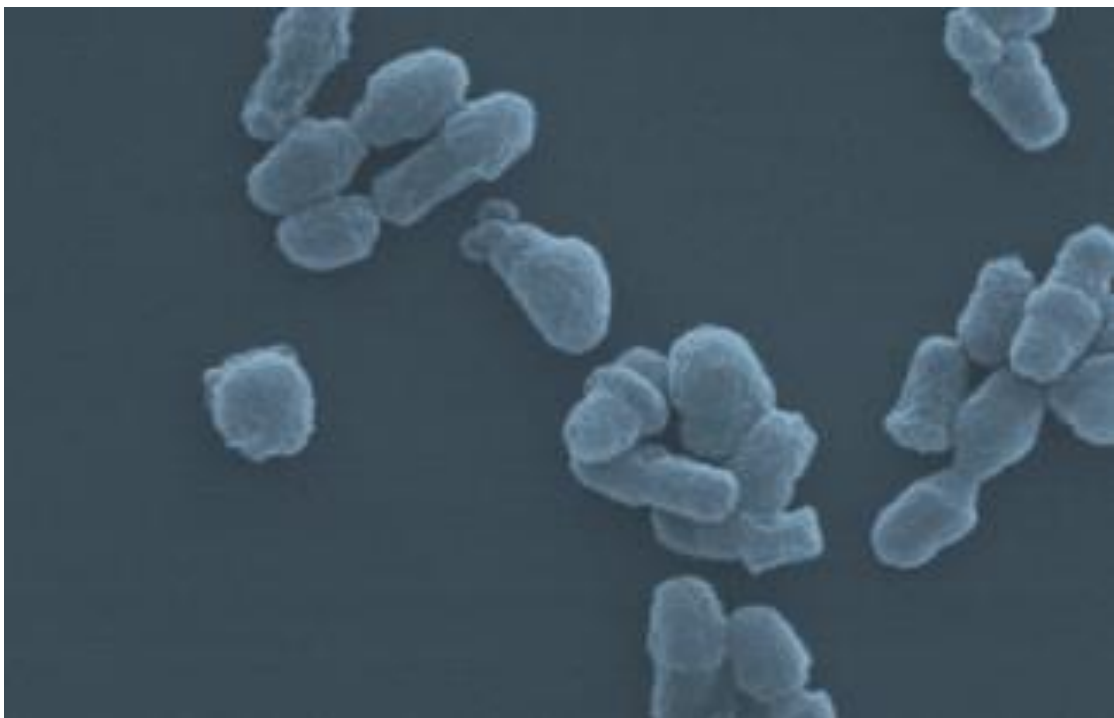


Figure 2 : Vue au microscope électronique de brucelles isolées de babouins (barre=1 μ m) (whathmore et al., 2014)

Tableau 8 : Réservoirs des espèces de brucella sp. et pathogénicité pour l'homme (pappas et al., 2005)

Espèce	Biovars	Hôte naturel	Pathologie pour l'homme
<i>B. Melitensis</i>	1a3	Ovins, caprins, Ongules sauvages	Très forte
<i>B. Abortus</i>	1a9	Bovins. Ongules sauvages	Fort a très forte
<i>B. Suis</i>	1a 5	Suides (1-3), lievres (2), caribous et rennes (4), rongeurs sauvages (5)	Forte pour les biovars 1 et 3, modérée pour le biovar 4, faible pour le biovar 2 et inconnue pour le biovar 5
<i>Brucella canis</i>		Canis	Canides faible
<i>Brucella ovis</i>		Ovins	Non pathogène
<i>Brucella Neotomae</i>		Rongeurs	Inconnue
<i>Brucella pinnipedia,</i> <i>brucella cetaceae</i>		Baleine, dauphins, phoques, morses	Forte pour certaines espèces, inconnue pour les autres

3.2. Pathogénie

La pénétration de la bactérie se fait généralement via la muqueuse orale, le nasopharynx, les conjonctives, par la voie génitale, et parfois par des lésions cutanées. Il se produit alors une réaction inflammatoire aiguë de là sous muqueuse avec infiltration des leucocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes), puis il y a extension par voie lymphatique aux nœuds lymphatiques locaux. L'infection brucellique évolue en deux périodes (primaire et secondaire) (Akakpo et al., 2009).

➤ **période primaire :** suite à la contamination, il y a d'abord une multiplication des *brucellas* dans les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation, ou les bactéries peuvent persister pendant très longtemps. Ensuite, si les *brucellas* ne sont pas éliminées, il se produit une dissémination, par voie lymphatique et dans une moindre mesure par voie

Synthèse bibliographique

sanguine. L'animal présente alors une bactériémie qui peut mener à l'infection de nombreux tissus : tissus lymphoïdes (surtout les nœuds lymphatiques de la sphère génitale), placenta des femelles gravides, testicules et leurs annexes, glande mammaire, bourses séreuses et synoviales, et certaines articulations. Parfois, des manifestations cliniques se déclarent alors, caractéristiques de la brucellose aiguë : avortement, orchite...

➤ **période secondaire** : elle est marquée par un état de résistance de l'hôte, grâce au développement d'une immunité, qui ne mène que rarement à la guérison. En effet, les *brucella* peuvent survivre plusieurs années dans certains sites, comme dans les nœuds lymphatiques, demeurant à l'intérieur des cellules phagocytaires, à l'abri du complément et des anticorps. Leur réactivation est possible à chaque gestation, entraînant alors un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise basse. Lorsque des bactéries persistent au niveau des séreuses et des articulations, un hygroma ou une arthrite chronique peuvent se développer.

Cependant, les ovins se débarrassent plus facilement et souvent des brucellas que les bovins : il se produit souvent une auto stérilisation des brebis en repos sexuel, en six mois à un an. Chez la chèvre, les signes cliniques sont pauvres voire absents, et la distribution de la bactérie dans l'organisme est très extensive, avec des animaux qui demeurent souvent infectés toute leur vie (**Sibille, 2006**).

Les *brucelles* sont des parasites intracellulaires facultatifs de l'être humain et des animaux. Elles pénètrent dans l'hôte (figure 03) au niveau des barrières muqueuses et à travers la peau, ce faisant, les interactions de ces bactéries avec les cellules hôtes déterminent les conséquences de l'infection (**Hoffbauer et al., 2004**). Suite à la contamination, il se produit une réaction inflammatoire des sous muqueuses avec une infiltration leucocytaire et multiplication des *brucellas* dans les nœuds lymphatiques, drainant le site d'inoculation ou les bactéries peuvent persister pendant très longtemps. Ensuite, si les brucellas ne sont pas éliminées, il se produit une dissémination par voie lymphatique, et dans une moindre mesure, par voie sanguine. L'animal présente alors une bactériémie primaire qui peut mener à l'infection de nombreux organes parenchymateux et autres tissus éloignés du site d'entrée.

Les brucelles étant principalement des bactéries intracellulaires des monocytes-macrophages, des foyers granulomateux se développent dans les tissus lymphoïdes, tels que ; le foie, la rate, la moelle épinière, le placenta des femelles gravides (surtout, les nœuds lymphatiques de la sphère génitale), les testicules et leurs annexes, la glande mammaire, les bourses séreuses et synoviales, et certaines articulations (**Sidhoum, 2019**).

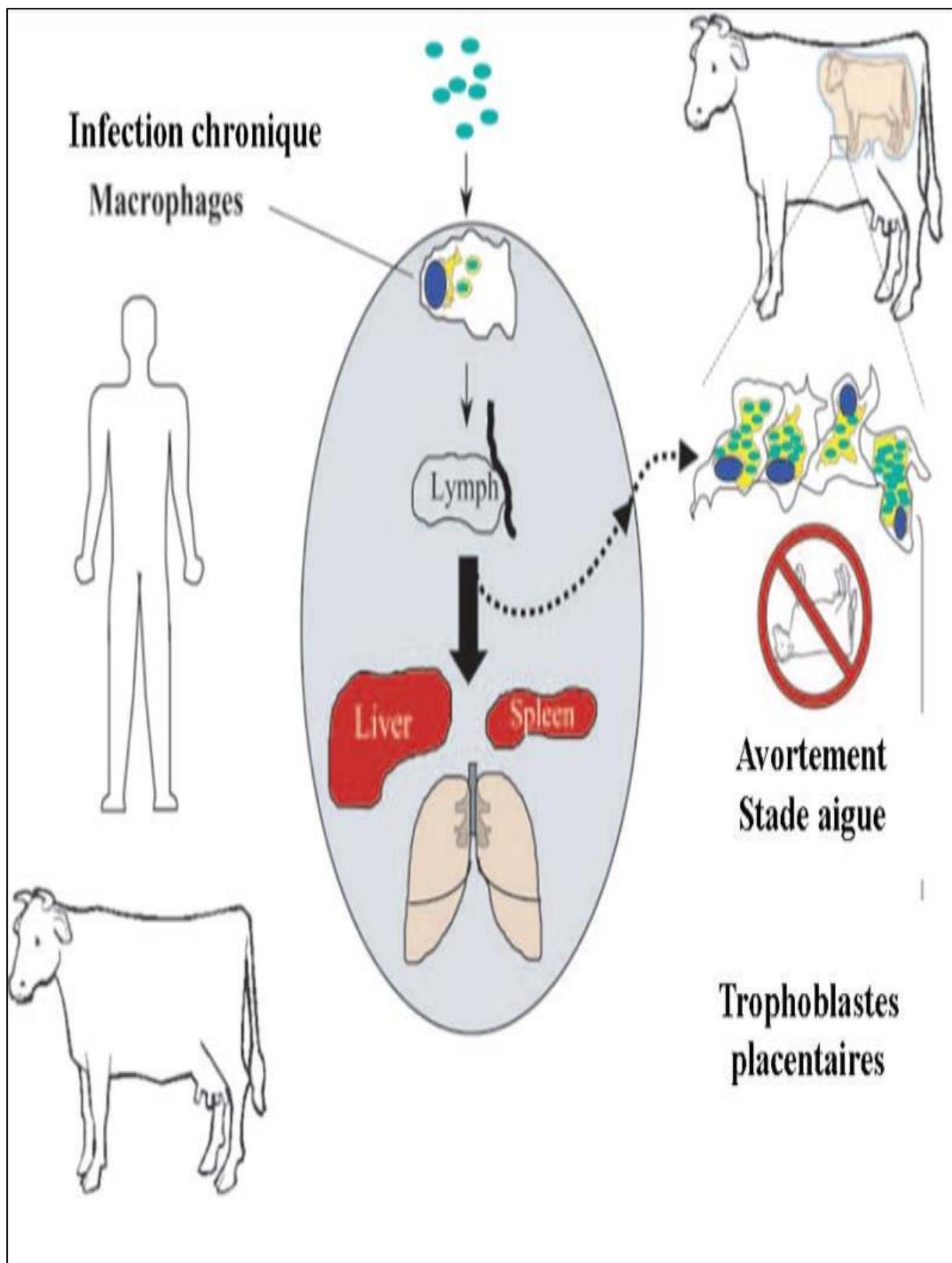


Figure 3 : Types de cellules prédominantes occupées par *brucella abortus* chez l'hôte naturel et l'hôte accidentel (humain) (roop et al., 2004).

Tableau 9 : Comparaison des principales caractéristiques des brucelloses

	Brucellose Bovine	Brucellose Ovine	Epidimyte contagieuse du bélier	Brucellose Caprine	Brucellose Equine	Brucellose Canine	Brucellose Humaine
Agent Principal	<i>Brucella Abortus</i>	<i>Brucella Melitensis</i>	<i>Brucella ovis</i>	<i>Brucella Melitensis</i>		<i>Brucella canis</i>	<i>Brucella melitensis</i>
Agent Occasionnel	<i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i>		<i>B.abortus</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.melitensis</i> <i>B.suis</i>	<i>B.abortus</i> <i>B.suis</i> <i>B.canis</i>
Importance Economique	Forte : avortements chutes de production	Forte : avortements chutes de production	Moyenne : baisse du taux de natalité du troupeau	Forte : avortements, chutes de production	Moyenne : inaptitude au travail	Faible	Forte : traitement et prévention coûteux
Importance Hygiénique	Forte : Zoonose	Forte : Zoonose	nulle	Forte : Zoonose	Forte : zoonose	Forte : Zoonose	Forte : zoonose
Symptômes Majeurs	Avortement, mortalité périnatale, rétention placentaire	Avortement, mortalité périnatale, stérilité temporaire	Inflammation de la queue de l'épididyme, baisse de la fertilité	Souvent asymptomatique Avortement, mortalité périnatale, stérilité temporaire	Lésions suppuratives chroniques	Avortement et stérilité avec <i>B.canis</i> . Souvent inapparente avec autres <i>Bucella</i>	Douleurs musculaires et articulaires, fièvre
Symptômes Mineurs	Infécondité temporaire Arthrites, Bursites	Rétention placentaire Mammites arthrites, bursites		Rétention placentaire Mammites, arthrites, bursites	Avortement		Avortement

4. Epidémiologie

4.1. Distribution géographique

La brucellose est encore présente dans les cinq continents. Les taux d'incidence et de prévalence de cette maladie y varient considérablement, d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre dans un même pays (**Aggad et Boukraa, 2006; Al-majali et al., 2009; Boukary, 2013; (Gwida et al., 2010; Lucchese et Nascia., 2016 ; Refai , 2002).**Toutefois, dans plusieurs pays, sa distribution est plutôt rare à cause de l'aspect insidieux de la maladie. En effet, de nombreux pays aux ressources limitées font face à d'autres maladies infectieuses ayant des conséquences sanitaire et économique néfastes, comme la fièvre aphteuse ou la peste des petits ruminants, et de ce fait, la maladie reste sous diagnostiquée.

L'état sanitaire des élevages est fonction des programmes de lutte et des moyens mis en œuvre par chaque pays pour combattre la maladie. Plusieurs pays sont parvenus à éradiquer la brucellose animale après de longues années de campagnes sanitaires, combinant vaccination, dépistage et abattage. Raison pour laquelle, la plupart des pays d'Europe du nord, les états unis, la canada, le japon, l'Australie et la Nouvelle-Zélande sont considères comme indemnes de l'infection (**Godfroid et Käsbohrer, 2002; Gov.uk, 2013; Olsen et Tatum, 2010).** Bien que la brucellose ait été éradiquée de plusieurs pays développés, elle reste un problème de sante publique majeur dans de nombreuses régions du monde, particulièrement en Afrique, en Amérique du sud et en Asie (**Figure 4)(Rossetti et al., 2017).**

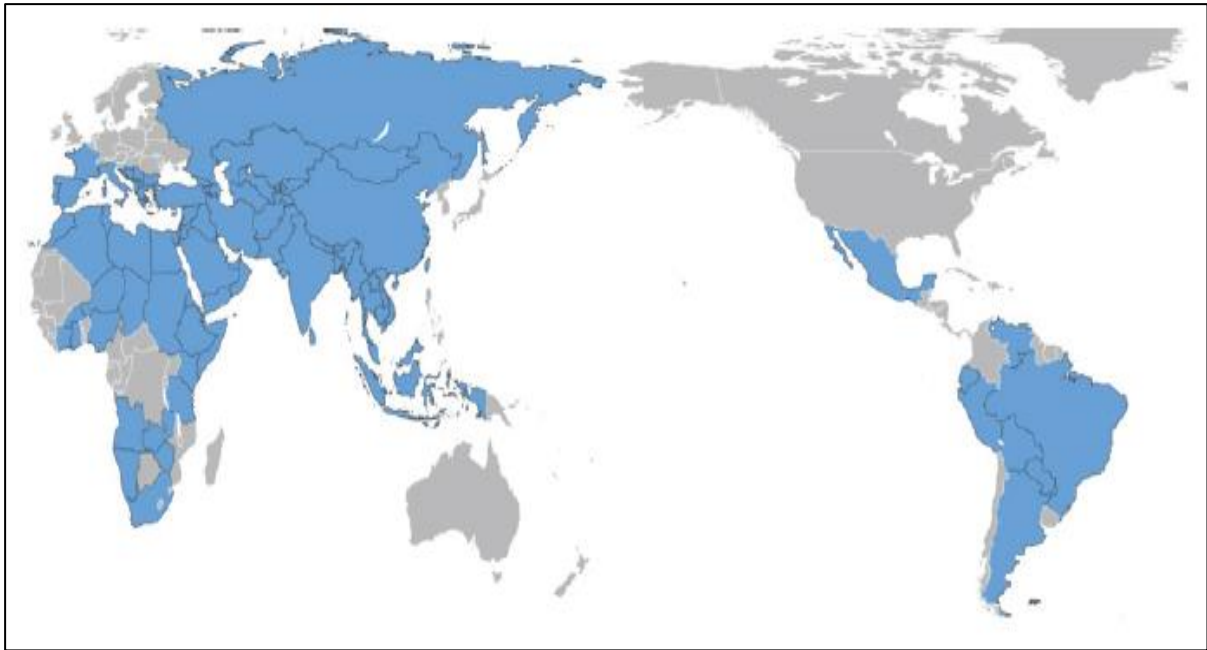


Figure 4 : Distribution mondiale de la brucellose (Rossetti et al., 2017).

La brucellose des petits ruminants domestiques *aB. melitensis* est endémique tout autour de la mer méditerranée, s'étendant même à l'Asie centrale, de la péninsule arabique à la Mongolie. Des régions d'Amérique centrale sont également particulièrement touchées par cette affection (Mexique, Pérou, Argentine). On la retrouve également en Afrique et en Inde, mais moins fréquemment. Au contraire, l'Amérique du nord, l'Europe du nord, l'Asie du sud-est, l'Australie ou encore la Nouvelle Zélande semblent être indemnes, exceptés quelques cas autochtones lors d'importations d'animaux porteurs ou malades à partir de régions d'endémie (Corbel, 2006; Baldi et Giambartolomei, 2013).

Les tableaux clinique et lésionnel de la brucellose *B. melitensis* observés chez les petits ruminants dépendent donc des caractéristiques des individus et varient de l'affection aiguë au portage asymptomatique. Nous verrons plus bas que ces aspects ont été très peu décrits dans la faune sauvage. En ce qui concerne l'occurrence géographique des trois différents biovars de *B. melitensis*, le biovar 1 prédomine en Amérique latine, tandis que son homologue 3 sévit presque exclusivement dans le bassin méditerranéen et le Moyen-Orient. Néanmoins, les biovars 1 et 2 ont également été décrits, dans une moindre mesure, dans des pays du sud de l'Europe. Rappelons que la différenciation entre les biovars 2 et 3 reste délicate et incertaine. Au sein de l'UE, la maladie sévit encore régionalement à l'état enzootique dans quelques pays (Grèce, Italie, Portugal, Espagne). Un certain nombre de pays européens sont tout de même indemnes de la brucellose des petits ruminants à *B. melitensis* (Lyon, 2012).

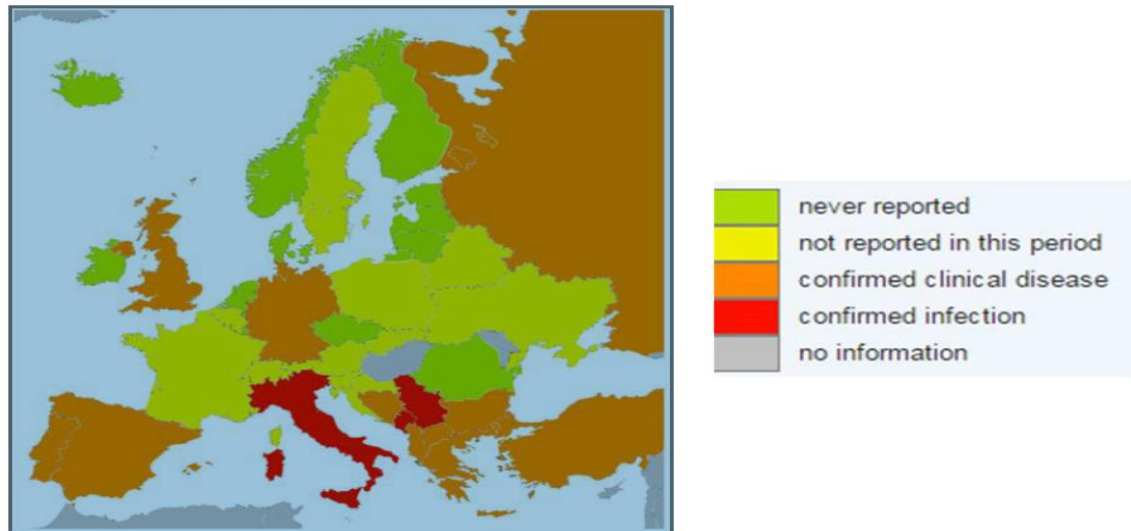


Figure 5 : Incidence de la brucellose a *brucella melitensis* chez les animaux domestiques en Europe durant le premier semestre de 2006 (oie, wahid interface disease distribution maps)

Tableau 10 : Les taux de prévalences signalés dans quelques études publiées dans les dernières années.

Continent	Pays	Espèce	Taux de prévalence	Technique utilisé	Référence
Asia	Bengladesh	Bovine Caprine	9.7% 6.3%	RB, SAW Elisa	(Ahasan, Rahman, and Rahman 2017)
	IRAK	Ovine Bovine Caprine	14.46% 11.69% 12.99%	RB et ELISA	(Bifo et al. 2020)
	Kuwait	Ovine	7%	RB et TCF	(Al-Sherida <i>et al.</i> 2020)
Amérique latin	Argentine	Bovine	2.10%	RT , i- Elisa, IFI	(Aznar et al. 2012)
	Urguay	Bovine	0.04 %	RT, ELISA,TCF	(Aznar et al. 2012)
	BRAZIL	Bovine	0.06%	RT,ELISA ,TCF	(Aznar et al. 2012)
Afrique	Tanzania	Bovine	9.3%	ELISA	(Akakpo, Têko-agbo, and Koné 2009)
	Niger	Bovine	0.01%	ELISA	(Adamou 2014)
			0.05%	EAT	
			0.16%	RT	
	Ethiopie	Bovine	0.4%	Rb et TCF	(Bifo et al. 2020)
	Cote d'ivoire	bovin	6.2%	SAW	(Sanogo et al. 2008)
			5.1 %	RB	
			7%	ELISA	
	Cameroun	caprin	3.4 %	RB	(Shey-Njila et al. 2005)
			5.93 %	ELISA	
	Algérie	ovin	2.2 %	TFC	(Sidhoum 2019a)
		caprin	5.23 %	RB	
		bovin	0.97 %	ELISA	
Tunisie	Caprine	70.4 ± 16.1%	i-ELISA	(Hdia et al. 2009)	

4.2. Espèces sensible et réceptives

La brucellose est une zoonose dont les espèces réservoirs sont habituellement les ruminants (bovins, ovins, buffles, yacks, chameaux, dromadaires...), les porcins, les canidés, les lièvres et les rongeurs. Les volailles, les oiseaux sauvages et les dauphins sont également des espèces sensibles. Les hommes peuvent être infectés par *b. Melitensis*, *b. Abortus*, *b. Suis*

Synthèse bibliographique

et plus rarement par *B. Canis*, causant à chaque fois de sérieuses maladies (**Black, 1987**) (**Figure 6**).

De rares cas d'infections liées à la brucellose ont été mis en évidence chez les primates. Rapporte un cas de brucellose, identifiée comme *B. Melitensis*, chez un babouin sauvage au Kenya. Cependant il demeure quelques interrogations vis-à-vis de cette découverte car les conditions de croissance de *Bordetella bronchiseptica* ressemblent à celles de *Brucella spp.*

Et il existe de nombreuses réactions croisées lors des tests d'agglutinations. D'autres études ont montré quelques babouins (*Papio sp.*) séropositifs au Kenya (**A. Benyahia, 2009**).

50 sérums prélevés sur des *Callithrix penicillata* se sont révélés négatifs en anticorps anti-brucella. cependant des sérologies positives ont été retrouvées chez des *Callithrix jacchus*. Aucun anticorps brucellique n'a été mis en évidence chez le macaque *Rhesus macaca mulatta*. En particulier, cependant les macaques peuvent être infectés expérimentalement avec *B. Melitensis*, *B. Abortus*, *B. Suis* et *B. Canis*. Les conséquences pathologiques sur les macaques rhesus après une exposition par aérosol de *B. Melitensis* sont semblables à celles observées chez l'homme avec la brucellose, ces résultats pourraient donc aider au développement d'un vaccin contre la brucellose pour les hommes (**Mense, 2004**).

La description de l'infection chez les primates non-humains a été plutôt limitée et fut initialement étudiée à la « South West foundation for biomedical research » (SFBR) il y a 45 ans. L'étude de (**A. M. Whatmore et al, 2014**) décrit pour la première fois deux cas d'infections naturelles de brucellose

associées à des avortements ou mort-nés chez des primates non-humains (babouins *Papio spp*) issus d'une même colonie.

De plus cette étude a mis en évidence et isolé une nouvelle espèce de brucella. La souche isolée ressemble morphologiquement à brucella bien que ses caractéristiques phénotypiques ne soient pas compatibles avec chacune des espèces actuellement décrites (**L. Molto, 2010**)

Synthèse bibliographique

Les ovins présentent une sensibilité variable *B. Melitensis* selon les races. En effet, les races laitières, comme les Lacaune, semblent plus sensibles. La sensibilité est également individu dépendante. Ainsi pour cette espèce, tous les types de situation peuvent être rencontrés, de l'infection aiguë avec avortement à la résistance totale, ainsi que des formes chroniques. Chez les bovins, l'animal jeune pre-pubère est réceptif mais sa sensibilité à l'infection est nulle, la maladie ne s'exprimant que très rarement à cet âge-là. L'animal jeune développe seulement une réaction sérologique discrète et transitoire. Dix pour cent des veaux nés de mères infectées semblent devenir porteurs latents. La sensibilité maximale est atteinte lorsque les organes génitaux sont complètement développés. Les animaux les plus sensibles restent les femelles gestantes (E. Lyon, 2012)

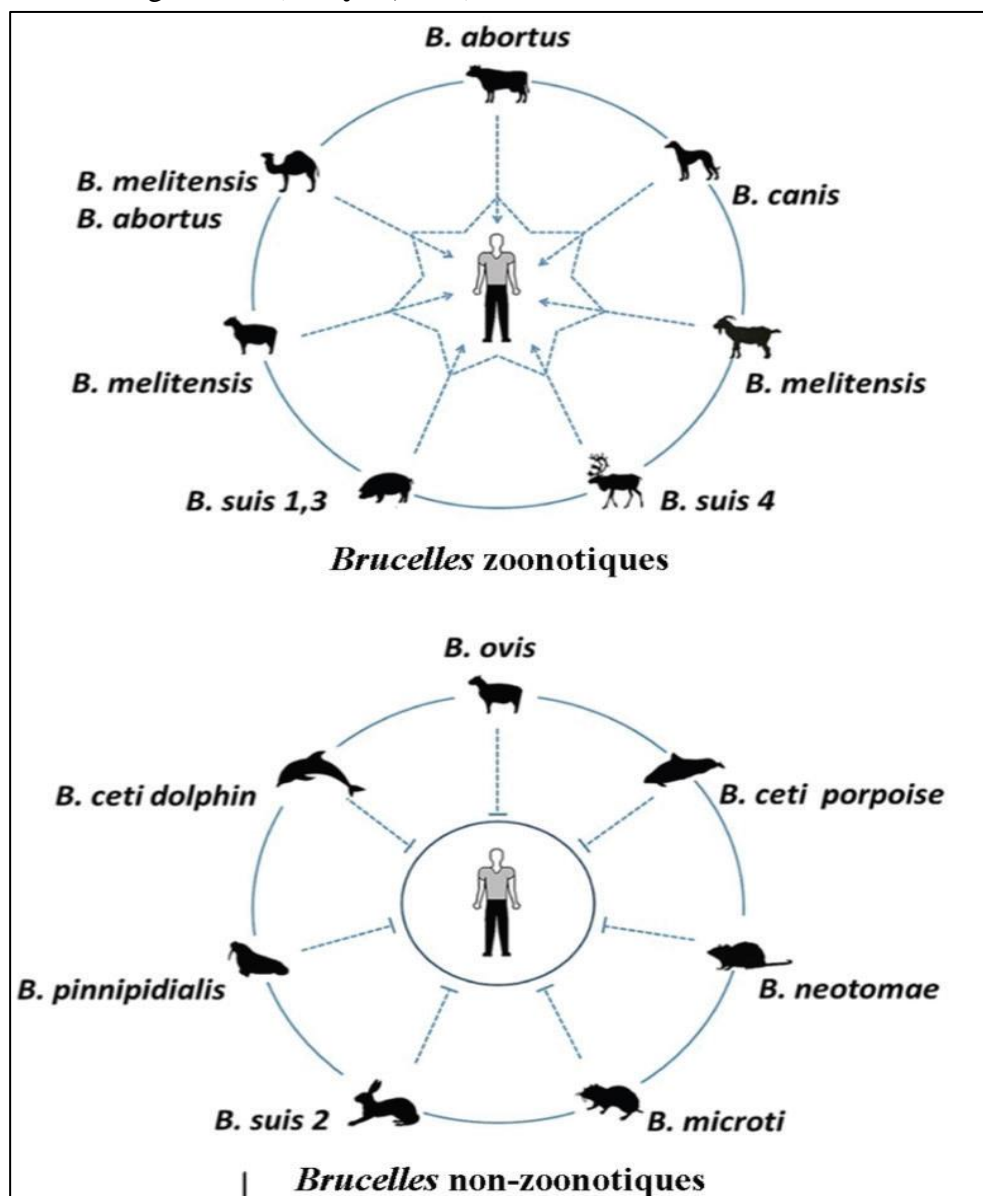


Figure 6 : Principales espèces de brucella et hôtes de prédilection (Moreno, 2014).

4.3. Impact économique

Les pertes sont surtout liées aux multiples avortements, l'infertilité des vaches, la baisse de production laitière et la contamination du lait. L'importance économique que revêt cette zoonose oblige certains pays à recourir aux programmes d'abattage-indemnisation et de vaccination a couts élevés (**Adamou, 2014; Akakpo et al., 2009**).

Les pertes économiques sont estimées a près de 600.106 dollars en Amérique latine. En Afrique de l'ouest, le troupeau laitier est affecté a 30%, et le rendement économique est réduit de 5,8% (**Benkirane, 2001**). On estime en 2002 que la production de lait et de viande en Afrique de l'ouest pourrait augmenter de 56.168 millions de dollars/an si la brucellose était éradiquée (**Saegerman, 2014**).

5. Signes cliniques

La brucellose est généralement une maladie des animaux sexuellement matures qui sévit souvent sous forme enzootique, voire épizootique au cours des épisodes aigus.

La maladie se manifeste chez la femelle par l'avortement qui se produit à n'importe quel stade de la gestation, mais plus habituellement vers le 6eme ou 7eme mois. Généralement, la femelle rejette le fœtus sans difficultés, en l'absence de dystocie. Les eaux fœtales apparaissent troubles, parfois jaunâtres ou ocracees. Cette coloration est causée par le méconium expulsé in utero par le fœtus souffrant d'anoxie. Si l'avortement survient avant le 6eme mois, l'avorton est toujours mort, parfois momifié. Au-delà, si le fœtus est vivant, il ne peut survivre que quelques heures.

Toutefois, si la mise basse est prématurée (quelques jours avant le terme), le nouveau-né peut succomber dans les 24 à 48 heures du fait des lésions nerveuses secondaires à une hypoxie (**Godfroid et al., 2013**).

Les lésions découvertes sur l'avorton ne sont pas pathognomoniques. Il s'agit, essentiellement de lésions d'anoxie marquées par une infiltration œdémateuse ou sero-hémorragique du tissu sous-cutané, et épanchements séro-sanguinolents ou hémorragiques des grandes cavités et des pétéchies ou suffusions cardiaques (**Egziabher et Edwards, 2013**). En outre, l'avortement du a la multiplication des bactéries dans l'espace utero-chorial survient surtout à partir du 6^{eme} ou 7eme mois. L'inflammation entraîne la non délivrance qui est fréquente en raison de la solidité des adhérences fibreuses utero-choriales et de la fragilité des enveloppes.

La rétention placentaire peut être observée, même en l'absence d'avortement (**Egziabher et Edwards, 2013; Hoffbauer et al., 2004**).

Synthèse bibliographique

La présence d'un exsudat grumeleux et jaunâtre à la surface du chorion est constatée avec une altération des calottes placentaires (villosités épaisses, blanchâtres ou jaunâtres) ; chorion terne, épaissi, parfois friable et gorgé d'une substance gélatineuse (**Egziabher et Edwards, 2013**). Des lésions d'endométrite constatées peuvent guérir en quelques semaines ou être responsables d'infécondité temporaire. Des complications infectieuses peuvent également se produire. Mais constitue une importante source de réinfection de la matrice, du nouveau-né animal ou humain, ou de l'homme, absorbant son lait. Cette situation de la mamelle a pour effet, une réduction de la production lactée (d'environ 10%) et l'apparition de mammites brucelliques, qui l'ors qu'elles se déclarent, touchent beaucoup d'animaux (**Egziabher et Edwards, 2013**).

Grace au développement d'une immunité qui ne mené que rarement à la guérison, un état de résistance de l'hôte est observé par la suite. En effet, les *brucella* peuvent survivre plusieurs années dans certains sites, comme les nœuds lymphatiques, à l'intérieur des cellules phagocytaires (**Maurin, 2005; Hoffbauer et al., 2004**) Leur réactivation est possible à chaque gestation, entraînant alors un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise bas. Lorsque des bactéries persistent au niveau des séreuses et des articulations, un hygroma peut se développer.

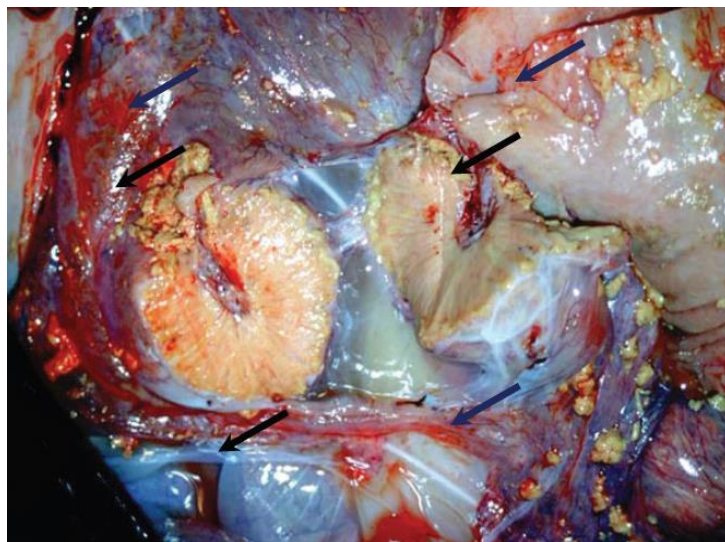


Figure 7 : Placentine nécrosante: utérus en coupe, contenant un exsudat nécrotique fibrineux multifocal à la surface caniculaire (flèche noire), associée à une hémorragie multifocale (flèche bleue) (**neta et al., 2010**).

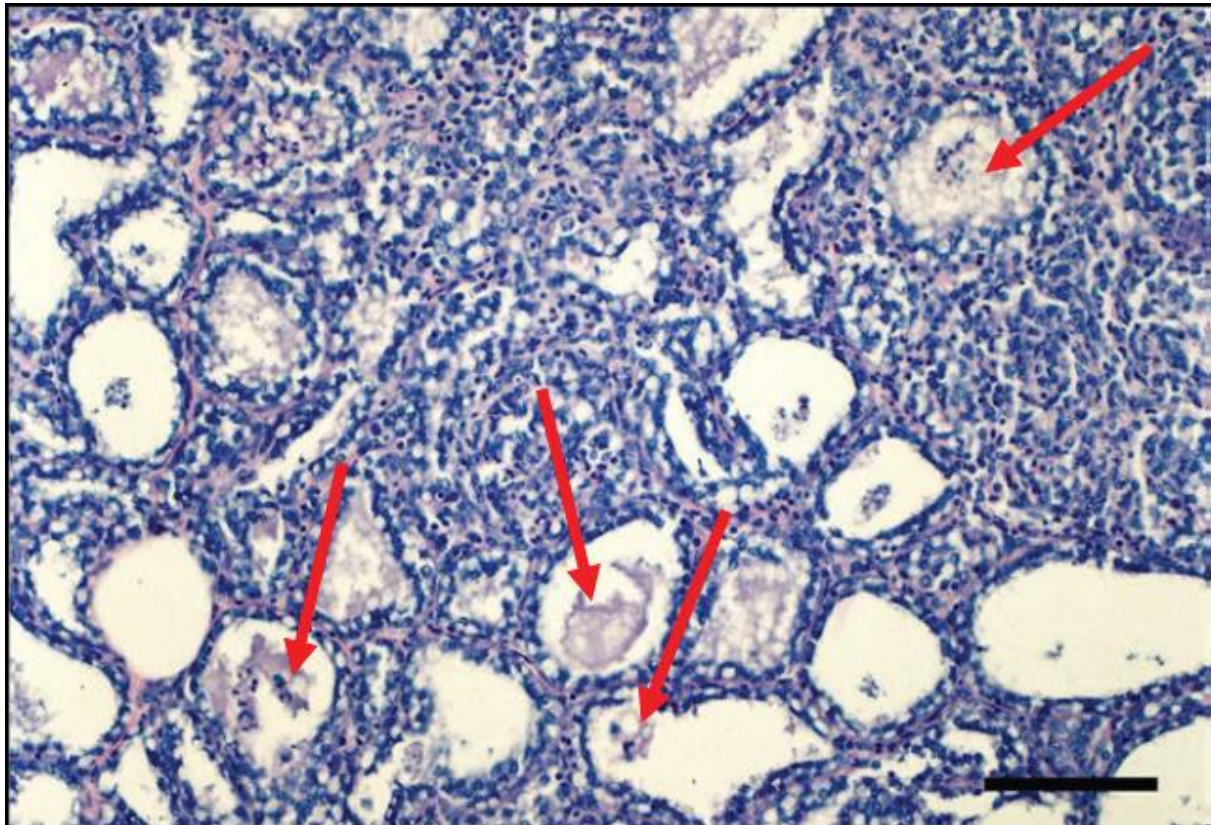


Figure 8 : Glande mammaire de vache infectée expérimentalement par *b. abortus* inflammation interstitielle focale de lymphocytes, de macrophages et de neutrophiles dans la lumière des acini (coloration par l'hématoxine et l'éosine) (50x) bar=100 µm). (Neta et al.,2010)

L'avortement est le plus souvent provoqué par une placentite exsudative et nécrotique, lorsque ces lésions sont étendues, elles empêchent donc les échanges nutritifs et le fœtus meurt d'anoxie, engendrant l'avortement. Si elles sont plus limitées, l'infection placentaire autorise alors la survie du fœtus, mais le nouveau-né meurt généralement dans les 48 heures après la mise-bas, à cause de lésions cérébrales d'origine hypoxique. Enfin, les adhérences utéroplacentaires sont souvent responsables de retentions placentaires chez les femelles infectées. Une femelle infectée n'avorte en général qu'une fois (dans 80% des cas), mais elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions génitales au cours des vêlages suivants (Egziabher et Edwards, 2013). Certaines femelles non gestantes peuvent résister à l'infection, grâce à la survie de *brucella* dans le compartiment intracellulaire des macrophages. Beaucoup de ces femelles développent alors des réactions sérologiques transitoires de faible amplitude, signant une absence de stimulation antigénique continue. Ces animaux sont donc dangereux, car sans anticorps spécifiques, mais porteurs de bactéries. En

Synthèse bibliographique

effet, 2,5 à 9 % des jeunes femelles peuvent être infectées in utero et ne présentent de symptômes que lors d'une gestation ultérieure (**Maurin et Brion, 2009**).

La prédilection des brucelles pour l'appareil génital femelle est attribuée à la présence de l'erythriol, alcool poly-hydrique, facteur stimulant la croissance de ces bactéries (**Maurin et Brion, 2009**). Il n'est pas présent dans le placenta humain. Lorsque la brucellose touche les mâles, les symptômes sont rares, mais il est possible toutefois d'observer ; la diminution de l'ardeur génésique ou une orchite qui se caractérise par la tuméfaction des bourses, un épaissement de l'albuginée et l'augmentation du volume du testicule qui reste indolore. L'orchite peut être associée à une épидидymite. Les lésions suppurées sont peu fréquentes (abcès superficiels ou profonds). Elles peuvent être associées à une inflammation des vésicules séminales (spermato cystite brucellique) des symptômes et lésions extra-génitales peuvent être également observées chez le mal, tels que l'arthrite (d'évolution chronique siégeant surtout au grasset, au jarret, parfois au genou ou l'articulation coxo-fémorale), et l'hygroma (fréquent au genou et contient une grande quantité de germes). Les localisations dans d'autres organes sont rares.

Enfin, il faut retenir qu'en-dehors de la gestation, l'infection peut être asymptomatique malgré une éventuelle élimination de *brucella* durant plusieurs mois, par différentes voies : mammaire, vaginale, spermatique. La brucellose animale sera donc, souvent chronique et bien tolérée. L'avortement, la baisse de fertilité, voire, l'infertilité ainsi que le risque sanitaire des mammifères domestiques rend compte de l'impact économique de cette zoonose, non négligeable (**Akakpo et al., 2020; Fox et al., 2013; Sidhoum, 2019**).

La brucellose peut se manifester de différentes façons : de manière aigüe, chronique ou inapparente, comme c'est souvent le cas dans l'espèce caprine ou de nombreux individus sont porteurs asymptomatiques.

5.1. Brucellose aigüe

Bien que des signes cliniques très variables soient décrits lors d'infections expérimentales par *B. melitensis* chez les petits ruminants domestiques, l'infection brucellique sous sa forme aigüe affecte tout particulièrement les femelles gestantes. Ces dernières ne mènent alors pas leur gestation à terme ou donnent naissance à des nouveaux nés faibles. La rétention placentaire après l'avortement fait également partie des présentations cliniques. La fertilité s'en trouve alors affectée, à cause des avortements et des infections utérines subséquentes. Chez le mal, la bactérie se localise principalement au niveau des testicules et de l'épididyme, provoquant alors orchite et épидидymite et pouvant aboutir à de la su fertilité ou

Synthèse bibliographique

infertilité (SCAHAW ,2001). Les deux sexes peuvent également montrer des signes d'arthrite. Les tableaux cliniques présentes par les petits ruminants domestiques ne semblent pas varier selon le biovar de *B. Melitensis* concerne(Sidhoum, 2019).

5.2. Brucellose chronique

L'avortement survient généralement une seule fois, a la première exposition. Cependant, lors des gestations suivantes, l'utérus est à nouveau colonisé par les *brucellas* et ces dernières sont alors disséminées via les annexes fœtales et les fluides associés. Une autre forme de brucellose chronique touche les individus non gestants exposés à une faible dose inoculatrice : ceux-ci développent une infection totalement contrôlée par le système immunitaire, ou peuvent devenir des porteurs latents susceptibles d'excréter la bactérie ala faveur d'un stress. L'espèce caprine peut tout particulièrement héberger la bactérie au niveau du tissu mammaire et de ses ganglions satellites, puis l'excréter lors des lactations successives. Cette forme de brucellose chronique avec excrétion de la bactérie sans atteinte de l'état général concerne également les males développant une orchite ou une épидидymite. (Lyon, 2012).

5.3. Lésions macroscopique et microscopiques

Lors d'autopsie, il est possible de retrouver des lésions granulomateuses inflammatoires au niveau de l'appareil reproducteur, de la mamelle, des nœuds lymphatiques supra mammaires, d'autres tissus lymphoïdes (rate, autres nœuds lymphatiques), et parfois au niveau des articulations et des membranes synoviales. Des orchites, épидидymites, prostatites et vésiculaires séminales, toutes nécrosantes, ont été observées. Le fœtus peut revêtir un aspect autolyse, être normal, ou avoir un excès de liquide séro-hémorragique dans les cavités naturelles, ou encore une rate ou un foie de taille augmentée. Des cas de placentite, avec de l'œdème et/ou une nécrose des cotylédons et/ou un amincissement du placenta inter cotyle donnaire ont été rapportés. Cependant, ces lésions ne sont pas pathognomoniques de brucellose ce qui complexifie le diagnostic clinique .

6. Diagnostic

6.1. Diagnostic direct

Les techniques de diagnostic direct, qui consistent à mettre en évidence la bactérie, sont les mêmes que celles menées au sein des cheptels domestiques : observation microscopique directe après coloration élective, culture et biologie moléculaire. (Godfroid et al., 2013; Lyon , 2012).

6.1.1. Polymérase Chain Réaction(PCR)

La PCR est une technique sensible et spécifique réalisée à partir du sang ou du sérum à la phase aiguë bactériémie et à partir de biopsies tissulaires ou de suppurations au cours des formes focalisées de brucellose. Les principales cibles utilisées sont le gène *bcs*p31, codant pour une protéine de 31 Kda, et la séquence d'insertion *is*711, dont plusieurs copies sont présentes dans le génome. La plupart des techniques sont spécifiques de genre et ne permettent pas de déterminer l'espèce en cause. Leur intérêt réside principalement dans le diagnostic aigu en cas d'antibiothérapie empirique négative angla culture et en cas de formes focalisées de brucellose, la sensibilité de la PCR se révélant supérieure à celle de la culture (Aigu, 1986)

La réaction en chaine par polymérase (PCR) est une technique récente et prometteuse qui permet un diagnostic rapide et précis de la brucellose sans les limites de la méthodologie conventionnelle (Baddouret *al.*, 2012; Akakpo *et al.*, 2020).

6.1.2. Techniques Bactériologiques (Des et al. 2008)

a) Culture

➤ Milieux de base

L'isolement direct et la culture des *Brucella* sont habituellement réalisés sur milieu solide. Cette méthode est la méthode de choix car elle permet le développement de colonies pouvant être isolées et aisément reconnues. De tels milieux limitent également l'apparition de mutants rugueux et ledéveloppement excessif de contaminants. Cependant, les milieux liquides peuvent être recommandés pour les échantillons volumineux et pour l'enrichissement. Une grande variété de milieux de base commerciaux déshydratés est disponible, tels que le milieu de base pour *Brucella* (*Brucella* medium base), la gélose tryptose (ou trypticase)-soja (TSA). L'ajoute de 2 à 5 % de sérum de bovin ou de cheval est nécessaire pour la croissance de souches telles que *B. abortus*biovar 2 et beaucoup de laboratoires ajoutent systématiquement du sérum aux milieux de base tels que la base pour gélose au sang (blood agar base [Oxoid]) ou la gélose Columbia (BioMérieux) avec d'excellents résultats.

D'autres milieux sont satisfaisants tels que la gélose sérum-dextrose (sérum-dextrose agar [SDA]) ou glycérol dextrose .Le SDA est généralement privilégié pour l'observation de la morphologie des colonies. Un milieu non sélectif et biophasique, le milieu de Castañeda, est recommandé pour l'isolement des *Brucella* à partir du sang et d'autres fluides biologiques comme le lait, pour lesquels un enrichissement est souhaitable.

Synthèse bibliographique

Ce milieu est utilisé du fait de la tendance des *Brucella* à dissocier en bouillon et la présence de bactéries rugueuses peut nuire au bio typage de la souche isolée.

➤ **Milieu sélectifs**

Une série d'antibiotiques est ajoutée pour inhiber la croissance de micro-organismes autres que *Brucella*. Le milieu sélectif le plus utilisé est le milieu de Farrell (30), préparé par l'ajout de 6 antibiotiques au milieu de base. Les quantités suivantes sont ajoutées à 1 litre de milieu :

polymyxine B sulfate (5 000 unités = 5 mg), bacitracine (25 000 unités = 25 mg), natamycine (50 mg), acide nalidixique (5 mg), nystatine (100 000 unités), vancomycine (20 mg). Un supplément antibiotique lyophilisé est disponible dans le commerce (Oxoid). Cependant, l'acide nalidixique et la bacitracine, à la concentration utilisée dans le milieu de Farrell, peuvent avoir un pouvoir inhibiteur sur certaines souches de *B. abortus* et de *B. melitensis*. Aussi, la sensibilité du diagnostic augmente-t-elle significativement lorsqu'on utilise le milieu modifié de Thayer-Martin simultanément au milieu de Farrell. Le milieu modifié de Thayer-Martin peut être préparé à partir d'une base de milieu GC (38 g/litre ; Laboratoire Biolife, Milan, Italie) à laquelle sont ajoutées hémoglobine (10 g/litre ; Difco) ainsi que colistine (méthanesulfonate [7,5 mg/litre]), vancomycine (3 mg/litre), nitrofurantoïne (10 mg/litre), nystatine (100 000 unités/litre = 17,7 mg) et amphotéricine B (2,5 mg/litre)

(tous ces produits sont disponibles chez Sigma Chemical USA) (50). À l'inverse de plusieurs biovars de *B. abortus*, la croissance de *B. melitensis* n'est pas dépendante d'un enrichissement avec 5 à 10 % de CO₂ de l'atmosphère.

Un enrichissement est conseillé pour les prélèvements dans lesquels le nombre de *Brucella* est plus faible que dans les produits d'avortement comme le lait, le colostrum et certains organes. Dans le cas du lait, les résultats sont également améliorés par centrifugation puis culture à partir de la crème et du culot. L'enrichissement peut être fait en milieu liquide, tel que bouillon sérum-dextrose, bouillon tryptose (ou trypticase)-soja (TSA) ou bouillon *Brucella* renfermant le mélange antibiotique minimal suivant : amphotéricine B (1 µg/ml) et vancomycine (20 µg/ml) (concentrations finales). Le milieu d'enrichissement est incubé à 37 °C en atmosphère enrichie à 5 à 10 % (v/v) de CO₂ pendant 6 semaines, en effectuant des subcultures hebdomadaires sur milieu solide sélectif. Si on souhaite limiter les subcultures il est possible d'utiliser un milieu biphasique comprenant un milieu sélectif solide et un milieu sélectif liquide dans la même bouteille (technique de Castañeda). Pour l'isolement des *Brucella* à partir du lait, on recommande parfois un milieu biphasique composé du milieu

Synthèse bibliographique

de base de Castañeda additionné des antibiotiques suivants à la phase liquide : polymyxine B (sulfate) ,(6 000 unités = 6 mg) ,bacitracine (25 000 unités = 25 mg) , natamycine (50 mg) ,acide nalidixique (5 mg) ; amphotéricine B (1 mg) ; vancomycine (20 mg) ; D-cyclosérine (100 mg) (quantités par litre de milieu).

Tous les milieux de culture doivent être soumis à un contrôle de qualité et devraient permettre la croissance de faibles inoculums de souches fastidieuses, comme le biovar 2 de *B. abortus*. Celui-ci est la souche sélectionnée aux États-Unis ; les laboratoires qui ne possèdent pas de permis pour une souche sélectionnée peuvent utiliser une souche de substitution non inscrite telle que la souche 19 ou RB51 pour le contrôle de qualité des milieux, tout en gardant présent à l'esprit que ces souches, adaptées au laboratoire, cultiveront sur des milieux qui pourraient inhiber des souches de *Brucella* à croissance difficile.

Sur milieu solide approprié, les colonies de *Brucella* sont visibles après 2 à 3 jours d'incubation. Après 4 jours d'incubation, les colonies de *Brucella* sont rondes, aux bords lisses, de 1 à 2 mm de diamètre. Elles sont translucides, de couleur jaune pâle lorsqu'on regarde les boîtes à la lumière du jour autravers (milieu transparent nécessaire). Vues de dessus, les colonies apparaissent convexes et blanc nacré. Plus tard, les colonies s'élargissent et s'assombrissent.

Les cultures lisses (S pour « *smooth*») de *Brucella* ont tendance, au cours des repiquages notamment, à évoluer pendant la croissance et à se dissocier vers des formes rugueuses (R). Les colonies sont alors moins transparentes plus granuleuses et plus ternes, et d'une couleur allant du blanc mat au brun en lumière réfléchiée et transmise. Le contrôle de dissociation s'effectue aisément par la méthode de coloration au cristal violet : les colonies rugueuses se colorent en rouge-violet et les colonies lisses restent jaune pâle. Les colonies lisses sont ensuite éprouvées avec un sérum anti-*Brucella* S ou mieux, avec les sérums mono spécifiques dirigés contre les antigènes de surface A et M. Les colonies non lisses sont ensuite éprouvées avec un sérum anti-*Brucella* R. Les changements dans la morphologie des colonies s'accompagnent souvent de modifications en termes de virulence, de propriétés sérologiques et/ou de sensibilité aux phages. L'observation d'une agglutination par un sérum anti-*Brucella* constitue une identification présomptive et l'identification complète doit être mise en oeuvre par un laboratoire de référence.

Avantage

- La reproductibilité du test est très bonne.
- La culture permet l'identification de l'espèce en cause.
- Cela permet la détermination de la sensibilité aux antibiotiques.

Synthèse bibliographique

Inconvénient

La spécificité de l'identification est rendue difficile du fait de conditions de Croissance très voisines pour *bordetellabronchiseptica* et *brucella*. (Méthode longue de quelques jours à quelques semaines.

6.2. Diagnostic indirect (Technique sérologiques)

Le diagnostic de la brucellose repose sur les tests sérologiques lorsque la bactériologie Ne peut être mise en œuvre.

6.2.1. Sero-agglutination de Wright

C'est une technique d'agglutination lente en tubes. Des dilutions de sérum à titrer sont Mises en présence de quantités constantes d'antigènes brucelliques, puis ces dilutions sont Mises à incuber une nuit à 37°C.

Lorsque le sérum est positif, il se forme des complexes antigène/anticorps qui Précipitent en formant un culot, tandis que le surnageant devient transparent. Lorsque le Sérum est négatif, le mélange réactionnel reste opaque. Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu comme test de référence par les organismes internationaux.

Avantages

Faible cout.,Faisabilité.

Inconvénients

Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu Comme test de référence par les organismes internationaux

6.2.2. Test rose Bengale

Réaction a l'antigène au rose Bengale, Ou antigène tamponne c'est une réaction d'agglutination rapide sur lame, sensible et spécifique. Elle est réalisée au moyen d'une suspension bactérienne colorée au rose Bengale en milieu acide tamponne. Elle permet le dépistage de pratiquement tous les cas de brucellose. Bien qu'elle ne mette en évidence que les IgG, elle ne se positive guère plus tardivement que le sérodiagnostic de Wright. Elle est donc très utile dans la phase aiguë. De plus, elle reste positive très longtemps et demeure ainsi souvent utilisable dans la phase chronique. Ce n'est pas une réaction quantitative et, en cas de positivité, les sérums doivent être titres par SAW. Cette réaction, de par sa simplicité, sa rapidité, sa sensibilité et sa spécificité, est devenue la technique de base du sérodiagnostic de brucellose, utilisée aussi bien pour le diagnostic et la surveillance de la brucellose-maladie que pour le dépistage et les enquêtes épidémiologiques. (Aigu, 1986)

Synthèse bibliographique

+ Avantages

- Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*b. Melitensis, suis, Abortus*) sur lame, en milieu acide tamponné (pH $3,65 \pm 0,05$).
- Le tampon acide permet d'augmenter la spécificité car l'activité agglutinante des immunoglobulines G augmente en pH acide.
- C'est une des méthodes les plus faciles à mettre en œuvre et la plus largement utilisée pour la mise en évidence des anticorps brucelliques dans les sérums.
- Simple et rapide, ce test est donc surtout utilisé en dépistage. Une fixation du complément ou une Elisa sont ensuite nécessaires pour confirmer les positifs ou douteux.

+ Inconvénients

Ce test est très sensible, en particulier chez les animaux vaccinés. En effet, le vaccin peut provoquer une forte réponse en anticorps, et interférer alors avec les tests sérologiques. Des faux négatifs peuvent apparaître, et seront détectés en renouvelant le test au moins trois mois d'intervalle.

6.2.3. Réaction de fixation du complément

Cette technique est très utilisée comme test de confirmation mais elle est compliquée à réaliser, demande un équipement de laboratoire sophistiqué et une équipe bien formée. La fixation du complément peut être réalisée à chaud (37°C pendant 30 minutes) ou à froid (4°C pendant 14-18 heures), avec des caractéristiques légèrement différentes, à adapter à la qualité des sérums testés.

Le protocole est le suivant :

Des dilutions successives du sérum inactivé sont mises en présence de concentration constante d'antigène brucellique ainsi que de complément titré, puis le tout est mis à incuber, au chaud ou au froid.

Les anticorps éventuellement présents dans le sérum analysé forment des complexes antigène/anticorps, propres à fixer le complément (s'il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le complément reste libre).

La présence de complément libre est mise en évidence par addition d'un complexe hémolytique : globules rouges de mouton + sérum hémolytique correspondant.

Si des anticorps spécifiques de *Brucella abortus* sont présents, il y a absence d'hémolyse, tandis qu'en l'absence de ces anticorps, une hémolyse se produit. Il est

Synthèse bibliographique

indispensable de mettre en place différents témoins pour pouvoir interpréter les réactions : un témoin sérum, un témoin antigène, un témoin complément et un témoin globules rouges.

L'interprétation des résultats est standardisée : il existe un système d'unité pour la lecture, basé sur le sérum standard de l'Office International des Epizooties, qui contient 1000 ICFTU (International Complément Fixation Test Units) par millilitre. Chaque laboratoire pratiquant ce test doit donc être agréé pour que ses résultats soient interprétables suivant les normes internationales. Ainsi, les sérums donnant un titre équivalent à 20 ICFTU/ml ou plus sont considérés comme positifs. Ce test est très spécifique, mais certains faux positifs peuvent apparaître à cause du vaccin S19. Les femelles vaccinées avec le vaccin S19 entre 3 et 6 mois sont considérées comme positives si le sérum donne une fixation positive à un titre de 30 ou plus ICFTU/ml (Aigu, 1986; Sibille, 2006)

Avantages

- Sa forte spécificité et sensibilité.

Inconvénients

- Test difficile à mettre en œuvre.

6.2.4. Preuve de l'anneau ou ring-test

C'est une méthode qualitative consistant à agglutiner les anticorps sériques (IgM, IgG1 Et surtout IgA) en présence d'antigènes colorés à l'hématoxine. L'agglutination forme alors un anneau coloré sur la crème du lait qui traduit une réaction positive. Elle est utilisable sur le lait individuel ou sur le mélange de lait des différents bovins, d'autre part, elle est pratique, rapide, renouvelable et peu coûteuse. Elle peut être répétée une fois par mois dans le cadre de la surveillance des vaches laitières. (Sidhoum, 2019; Ring, n.d.)

Avantages

- Ce test est très sensible.

Inconvénients

- Difficulté voire impossibilité de prélever du lait sur un primate.
- Nécessite d'avoir un lait positif et un lait négatif.
- Test non adapté pour les primates, fait pour les animaux de rente.

6.2.5. Fluorescence Polarisation Assay

Le mécanisme de ce test est basé sur la rotation aléatoire des molécules en solution. L'alignement des molécules étant le principal facteur influençant le taux de rotation, qui y est inversement proportionnel, une petite molécule tourne plus vite qu'une grosse. Si une molécule est marquée avec un fluorochrome, le temps de rotation pour faire un angle de

Synthèse bibliographique

68,5° peut être déterminé en mesurant l'intensité de la lumière polarisée dans des plans horizontaux et verticaux. Une grosse molécule émet ainsi plus de lumière dans un plan simple (plus polarisée) qu'une petite molécule, qui tourne plus vite et qui émet plus de lumière dépolarisée.

La sensibilité et la spécificité de ce test sont proches de celles de l'ELISA de compétition. Sa spécificité pour les animaux vaccinés avec le vaccin S19 est proche de 99% (Sibille, 2006).

+ Avantage

- C'est une technique simple et rapide de mesure d'interaction antigènes/anticorps, qui peut être pratiquée aussi bien en laboratoire que sur le terrain. Elle est recommandée comme test de référence dans le cadre du commerce international

+ Inconvénient

- L'interprétation des résultats n'a pas encore été standardisée.

6.3. Testes immunoenzymatiques

6.3.1. Technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Les tests Elisa (Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay) (Elisa) Pour la réalisation de ce test, le LPS de *brucella* est fourni fixe sur les parois des puits des microplaques en polypropylène. Les sérums ou laits à tester sont dilués et mis à incuber dans les puits. S'il y a des anticorps spécifiques, il se forme alors des complexes LPS/anticorps fixes sur les parois du puits. Après lavage, une immunoglobuline anti-anticorps couplée à une enzyme est mise à incuber, et ce conjugué se fixe sur l'immun complexe. Après un deuxième lavage, le substrat de l'enzyme (tmb) est ajouté dans les puits. Si l'immun complexe est présent, l'enzyme assure la transformation du substrat en un composé bleu, devenant jaune après blocage. L'intensité de la coloration mesure le taux d'anticorps présents dans l'échantillon. Le seuil de positivité est fixé à partir d'un échantillon de contrôle positif à introduire sur chaque microplaque.

+ Avantages

- L'Elisa de compétition est très spécifique et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux. Utilisable pour la confirmation sur les animaux vaccinés.

+ Inconvénients

- L'Elisa indirecte est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des vaccins et est donc plutôt utilisé en dépistage.

En conclusion, selon les recommandations de l'OIE, le test Rose Bengale, le BPAT (Buffered Plate Agglutination Test), l'ELISA et le test en lumière polarisée sont des bons tests de dépistage. Mais les positifs doivent toujours être confirmés en raison de leur manque

Synthèse bibliographique

de spécificité. Le test de sera-agglutination est considéré comme non satisfaisant pour des fins de commercialisation.

Le test de fixation du complément est plus spécifique et à un système standardisé'interprétation quantitative. Les performances de l'ELISA et du test en lumière polarisésont quand a elles comparables ou meilleures que celles du test de fixation du complément, etcomme ils sont plus simple techniquement, ils devraient être utilisés en priorité.

7. Traitement et prophylaxie

7.1. Traitement

Etant donné que cette maladie est une zoonose grave, le traitement est interdit lors d'infections animales. Les *Brucelles* sont en position intra-macrophagique ce qui rend leur traitement difficile et long. Si l'antibiothérapie est mal conduite, cela peut favoriser la persistance des bactéries dans les nœuds lymphatiques et l'installation d'infections latentes. Les brucella sont sensibles aux cyclines, aux aminosides, au cotrimoxazole et à la rifampicine. Chez l'homme, plusieurs molécules sont associées pendant plusieurs semaines, comme la doxycycline et la rifampicine qui sont des antibiotiques possédant une bonne pénétration intracellulaire(Lyon, 2012).

7.2. Prévention

La brucellose animale est une maladie règlementée. Elle figure sur la liste des maladies A déclaration obligatoire (MDO) et sur celle des maladies réputées légalement contagieuses(MRLC) .C'est pourquoi, elle est régie par un dispositif règlementaire et fait l'objet d'une prophylaxie collective systématique dans un grand nombre de pays (oie, 2018).

La lutte et la prévention des animaux contre la brucellose concernent la protection Des élevages sains et l'assainissement de ceux infectes. En effet, étant une MRLC, très Contagieuse, qui a des conséquences commerciales et économiques très lourdes pour les Elevages touchés, la brucellose fait l'objet d'une application des mesures de police sanitaire Pour éviter la propagation de l'infection aux exploitations et aux animaux (Reynier, 2013).

De surcroit, étant également une maladie zoonotique, donc transmissible à l'homme Et dont les conséquences sont très graves sur sa santé, le dispositif règlementaire vise Eventuellement à protéger les produits d'origine animale pour éviter un risque de contamination A l'homme (No Title, 2015)De plus, il y a un impact de la maladie sur l'économie des pays (Akakpo et al., 2020).

7.2.1. Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire se base sur les mesures offensives et défensives. Cependant, l'idéal consiste en l'assainissement des cheptels infectés et une Protection des cheptels indemnes (**Li et Coordinateur, 2012**).

Les premières concernent le dépistage sérologique régulier des animaux pour un Diagnostic précoce de la maladie, en particulier chez les animaux apparemment sains et, Isolement de ceux qui sont infectés car la maladie peut parfois persister toute la vie de l'animal, puis assainissement rapide par abattage total des cheptels infectés. De même, les jeunes femelles nées de mères infectées, doivent être éliminées et le contrôle doit concerner toutes les espèces réceptives dans la ferme et l'élimination des infectés.

Pour limiter la transmission vénérienne, l'insémination artificielle doit être mise en place. L'isolement strict des animaux infectés, en particulier lors de mise-bas, doit se faire dans un Local facile à désinfecter, sans omission d'appliquer des mesures de désinfections adaptées A la situation, tels que ; la destruction du placenta, le traitement des fumiers, etc. Il ne faut Toutefois pas, négliger l'importance des avortements dans la transmission et le maintien de L'infection dans les élevages. Ils doivent en particulier, faire l'objet de déclaration. En effet, Dans les pays où la maladie a été éradiquée, la lutte contre la brucellose est principalement Axée sur la déclaration des avortements (**bendali, 2011**). Les secondes mesures défensives sont essentiellement fondées sur la protection des Elevages sains par l'introduction d'animaux certifiés indemnes, avec leur mise en quarantaine. Le contrôle par sérologie doit être individuel pour le maintien du cheptel à l'abri des contaminations de voisinage. Et au sujet de l'hygiène de la reproduction, la monte publique ou l'insémination artificielle doivent être appliquées avec beaucoup de rigueur. De même que, les parturientes doivent être isolées et les placentas détruits, les locaux désinfectés périodiquement pour la destruction du germe, éventuellement présent dans l'environnement.

En Algérie, l'assainissement sanitaire ne concerne que les animaux séropositifs Et uniquement des élevages des exploitants détenteurs d'un agrément sanitaire (**Sidhoum, 2019**).

7.2.2. Prophylaxie médicale

Son objectif est de renforcer les moyens naturels de résistance des organismes Sensibles. La prophylaxie médicale de la brucellose repose exclusivement sur L'utilisation des vaccins (**Boukary et al., 2013**).

Synthèse bibliographique

La vaccination peut compléter efficacement la prophylaxie sanitaire en augmentant la résistance des animaux à l'infection et en limitant le risque d'avortement (**Sidhoum, 2019; Su et al., 2020**).

7.2.3. Vaccination

Ils sont soit à base de bactéries vivantes, soit à base de bactéries inactivées et comportent dans ce cas des adjuvants de l'immunité. Ils peuvent être non agglutinogènes. (**Valette, 1987**) Pour les bovins, deux vaccins existent actuellement contre la brucellose : les vaccins b19 et rb51 a *B.Abortus* sont utilisés chez les bovins . Par ailleurs, le seul vaccin autorisé chez les petits ruminants, est modifié avec la souche rev1 a *b. Melitensis* (**No Title n.d.**). La vaccination doit être associée au dépistage et à l'élimination des animaux infectés pour conduire à une éradication de la maladie.

7.2.3.1. Le vaccin s19

N'est pas un vaccin idéal mais c'est le plus utilisé à travers le monde.

C'est un vaccin à agent vivant fabriqué à partir de la souche s19, qui appartient au biotype 1 de *brucella abortus*, mais n'a pas besoin de supplément de CO² pour sa croissance, et n'est pas inhibé par le bleu de thionine, la safranine, la pénicilline et l'érythrol. Son efficacité est très bonne, mais il a quelques inconvénients majeurs. En effet, il induit une réponse humorale identique à celle qui se produit lors d'une infection (déterminant antigénique majeur porte par le Lps de la membrane externe), avec des anticorps résiduels dans le lait et le sérum posant problème pour le dépistage. De plus, il peut être infectieux pour l'homme, et a un effet abortif chez certaines vaches. (**Roux, 1979; Taktaz et al., 2015; Thys et al., 2005; Valette, 1987**)

7.2.3.2. Le vaccin rb51

Est devenu le vaccin officiel pour la prévention de la brucellose bovine dans plusieurs pays. Chaque pays utilise cependant des protocoles de vaccination différents. Il a été rapporté que ce vaccin induisait des placentites sévères et des infections du placenta chez la plupart des animaux, et qu'une excrétion de bactéries dans le lait existait chez une part importante de la population vaccinée son inoculation à des femelles gravides peut également provoquer des avortements. L'utilisation de la dose réduite permet de supprimer ces problèmes, mais n'est alors efficace que chez des animaux adultes.

L'avantage de ce vaccin est qu'il ne se produit pas de séroconversion des animaux vaccinés car la souche utilisée n'a pas de LPC. Cependant, lorsqu'il est administré en dose

Synthèse bibliographique

Réduite, il faut répéter les injections, ce qui peut mener à une réponse en anticorps interférant Avec les tests sérologiques(Sibille, 2006).

7.2.3.3. Le vaccin rev 1

Il est utilisé chez les ovins préparé à partir d'un mutant reverse d'une souche de *brucella melitensis* streptomycine-dépendante, il est très actif, mais contre-indiqué chez les brebis gestantes. Il est très largement utilisé dans les régions d'élevage où la brucellose ovine est endémique. (Benkirane, 2001; Valette, 1987) .Son inoculation provoque une hyperthermie transitoire avec anorexie passagère, et parfois une réaction inflammatoire au site d'inoculation. La souche persiste ensuite dans l'organisme. Mais elle est labile en conditions naturelles et doit donc être conservée au frigo.

Une seule injection sous cutanée ou conjonctivale aux jeunes femelles de 3-6 mois assure une protection pendant plusieurs années, avec une réponse sérologique limitée qui N'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes.

La dose classique en sous cutanée est de 10-20 milliards de bactéries : les anticorps Persistent alors deux ans. Cette même dose injectée par voie conjonctivale entraîne une Persistance des anticorps pendant seulement quatre mois(Moriyón et al., 2004; Sidhoum, 2019).

Partie expérimentale

L'objectif de travail

Dans cette étude nous avons utilisés les sérums d'une étude précédente, réalisée durant une période s'étalant entre Septembre 2015 à Octobre 2017, dans 22 communes de la wilaya de Tébessa. Cette étude a été visée pour la détection sérologique des agents infectieuses abortifs chez l'espèce ovine, ces agents sont : *Brucella* spp (*abortus*, *melitensis*)

- Notre objectif dans cette étude est :

1. Estimer la fréquence des anticorps anti-*Brucella abortus* dans le sérum ovin via l'utilisation de séro-agglutination de Wright (SAW),
2. Etudier une éventuelle association statistique entre la séropositivité et certains facteurs de risque.
3. D'autre part, comparer ces résultats avec les résultats obtenus après l'analyse de mêmes échantillons par la technique d'ELISA

1. Matériels et Méthode

1.1. Présentation générale de la région d'étude

La wilaya de Tébessa se situe au Nord-Est de l'Algérie ; s'étend sur une superficie de 13.878 km², c'est une zone qui regroupe un vaste étendu steppique de notre pays en position de transit entre le Nord et le Sud, son altitude varie entre -1 et 1713m. Elle est limitée au Nord par la Wilaya de Souk-Ahras, au Sud par la Wilaya d'El Oued, à l'Ouest par les Wilayet d'Oum Elbouaghi et Khenchela et à l'Est par la république tunisienne sur une distance de 300 km de frontière. Sur le plan administratif, la wilaya compte 28 communes regroupées en 12 Dairas (**Figure9**).

Cette région étant une zone de transition météorologique est considérée comme une zone agro-pastorale avec une présence d'un nombre important de phénomènes (gelée, grêle crue, vent violent). Elle se caractérise par un hiver froid avec faible pluviométrie, et un été chaud et humide (la température dépasse 40°C en juillet).

La superficie totale de la wilaya se divise en quatre zones homogènes du côté des données climatiques.

1. La zone Subhumide (400 à 500 mm/an) très peu étendu, il couvre que quelques ilots limités aux sommets de quelque reliefs (une superficie de 135000 ha, soit 10% de la superficie totale).
2. La zone Semi-aride (300 à 400 mm/an) représenté par les sous étages frais et froid, il couvre toute la partie Nord de la wilaya avec une superficie de 229450 ha.

Partie expérimentale

- La zone Sub-Aride (200 à 300 mm/an) couvre les plateaux steppiques d'Oum-Ali, Safsaf-El-Ouesra, Thlidjene et Bir El-Ater, occupe environ 50% de la superficie totale de la wilaya.
- Et, la zone Aride ou saharien doux (-200 mm/an), commence et s'étend au-delà de L'Atlas saharien et couvre les plateaux de Negrine et Ferkane, soit une superficie de 202457 ha.

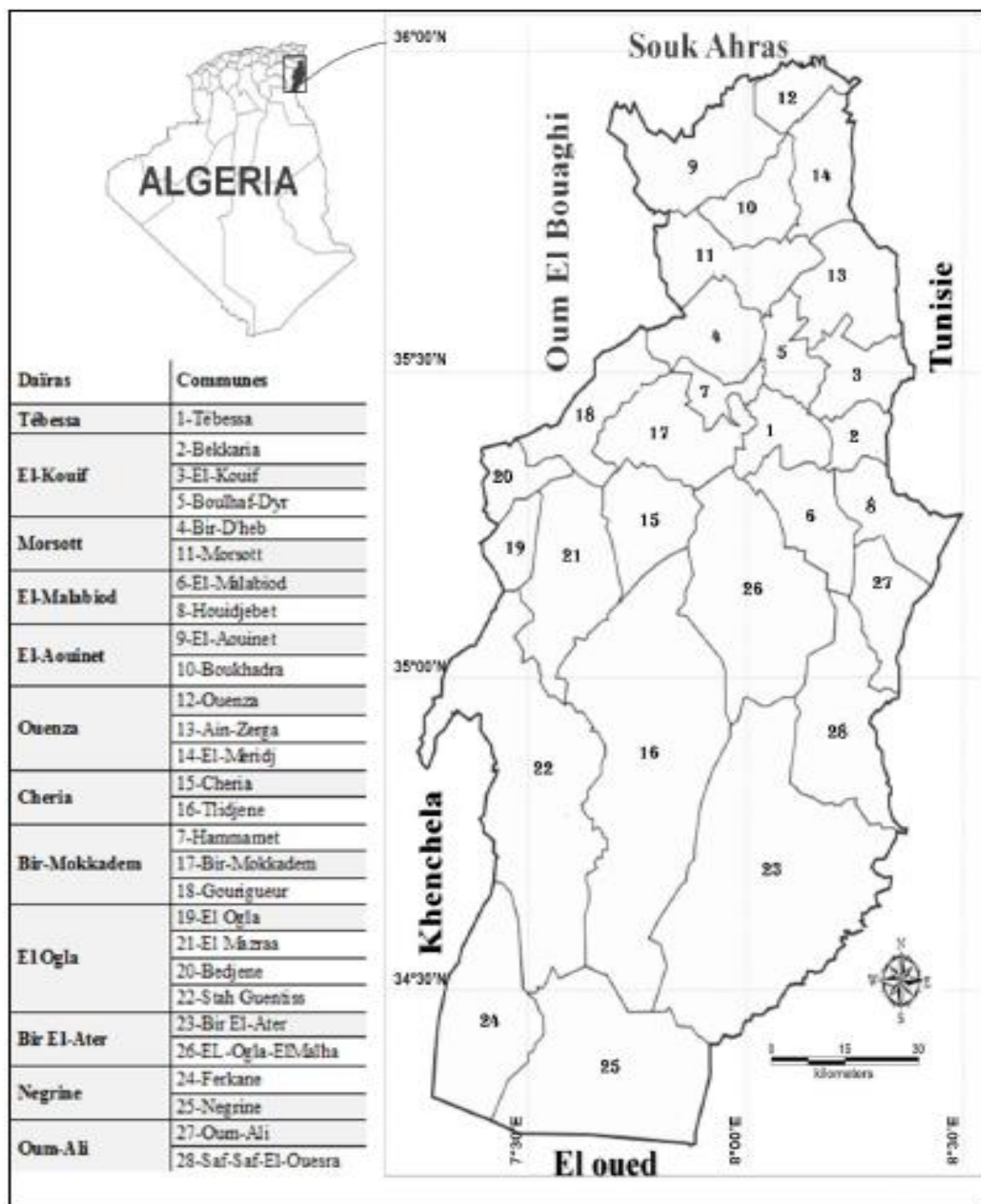


Figure 9 : Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa.

Partie expérimentale

1.2. Matériels

1.2.1. Période d'étude

Les prélèvements de sang ont été effectués durant une étude précédente, pendant trois saisons de pic d'agnelage (entre Septembre 2015 et Novembre 2017). Alors que, l'analyse sérologique par la technique de Wright (SAW) se fait entre le 27 Avril et le 02 Mai 2021, au niveau de laboratoire de l'hôpital BOUGUERRA Boulaaras, commune de Bekaria– Tébessa.

1.2.2. Animaux

Cette étude inclus **357** prélèvements provenant de **38** élevages privés d'espèce ovine, issus de **22** communes de la wilaya de Tébessa.

1.2.3. Prélèvements sanguins

Des échantillons de sang de 5 ml ont été prélevés à la veine jugulaire de l'animal ; en utilisant des tubes secs de type Vacutainer à l'aide d'une aiguille jetable et un porte aiguille, ou bien à l'aide des seringues de 5cc pour d'autres échantillons.

Les sérums ont été extraits par centrifugation (3000 rpm for 10 min), ou bien après coagulation et décantation des prélèvements (**Figure 10,11**). Le sérum, obtenu a été aliquoté dans des tubes Eppendorf puis a été congelé à -20°C avant d'être analysé. Aucun prélèvement de sang total n'a été réfrigéré ou congelé pour éviter l'hémolyse.

A chaque prise de sang, le tube était ensuite numéroté, et le numéro reporté sur une fiche de prélèvement où étaient indiqués la description de l'animal (date de prélèvement, présence ou absence d'avortement pendant la dernière gestation, présence ou absence des chèvres dans le même élevage, nombre de parité, taille de troupeau et taux des avortement), ces informations sont enregistrées après avoir fait un questionnaire avec les éleveurs de cheptels.

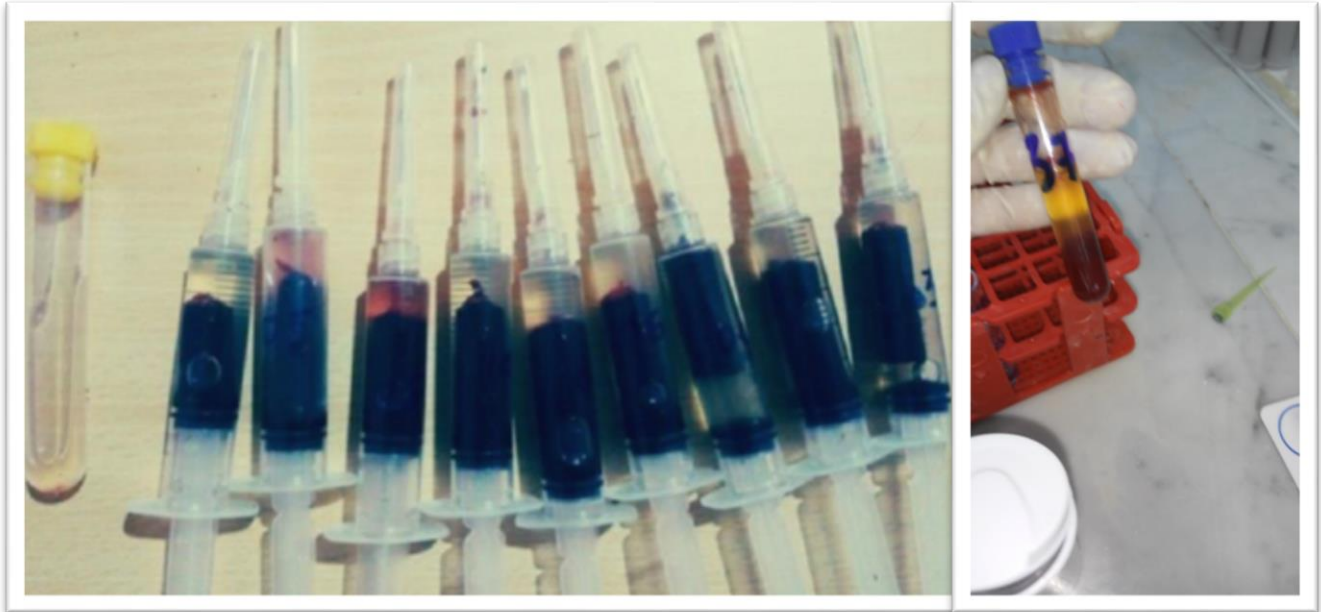


Figure 10 : Coagulation de sang et décantation de sérum.

Figure 11 : Sang prélevé après centrifugation

1.3. Test sérologique

Tous les sérums utilisés ont été testé via un test séro-agglutination de Wright (SAW), réactif Antigènes Bactériens[®], Agglutinations sur lame et en tube. SPINREACT, S.A./S.A.U. SPAIN. Validé jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret en l'absence de contamination (y compris après ouverture).

1.3.1. Principe de test de Wright

Les antigènes bactériens sont une technique d'agglutination sur lame et en tube pour la détection et la semi-quantification d'anticorps anti-*Brucella (abortuset melitensis)* dans le sérum humain ou animal. Les réactifs, des suspensions bactériennes colorées et standardisées, s'agglutinent en présence de l'anticorps homologue correspondant dans les échantillons testés.

1.3.2. Réactifs

- 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.
- Contrôle positif : contient entre 320 - 640 $\mu\beta$ dans 100 μl , réagit avec le réactif de Wright et formant une agglutination (Antigène- Anticorps).
- Contrôle négatif : ne contient pas les antigènes bactériens, et n'as aucune réaction avec le réactif de Wright (**Figure 12,13**)

Partie expérimentale



Figure 12 : Contrôle positif et négatif



Figure 13 : Réactif de Wright

1.3.3. Matériels nécessaires

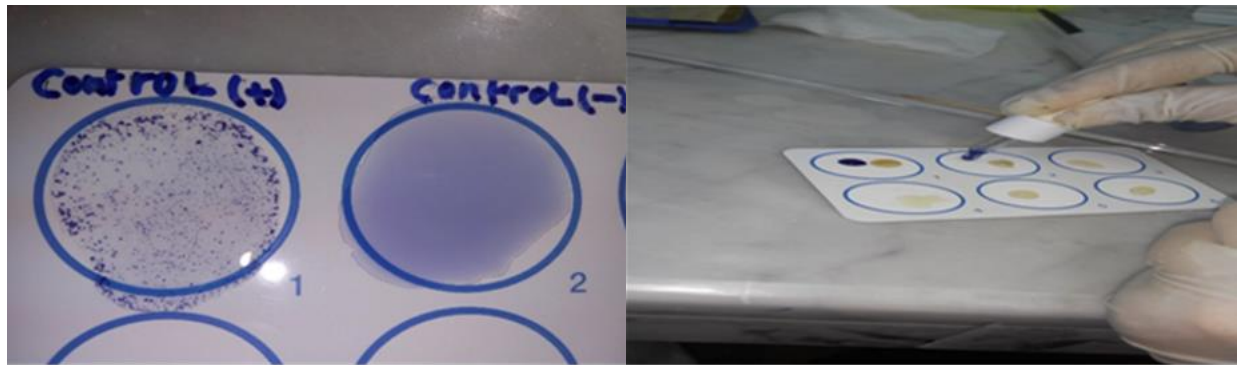
- Embouts de pipette
- Plaques jetables
- Centrifugeuse
- Bain marie.
- Pipettes volume 25 μ L et 50 μ L (pour sérum).
- Incubateur
- Eau physiologique

1.3.4. Mode opératoire

1.3.4.1. Méthode qualitative (Méthode d'agglutination sur lame)

1. Laisser reposer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai à basses températures.
2. Déposer 50 μ l de l'échantillon à tester et 1 goutte de 50 μ l de chaque témoin en cercles séparés sur une lame.
3. Mélanger le réactif vigoureusement. Ajouter une goutte 50 μ l 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 lame sur un agitateur tournant à 80-100 tr/min pendant 1minute.

Partie expérimentale



1. Déposer 50 μ l de chaque témoin (positif et négatif) avec 50 μ l de réactif

2. 50 μ l réactif de Wright + 50 μ l de sérum de l'échantillon



3. Agitation du réactif avec le sérum

4. Le mélange sur toute la Surface interne de cercle

Figure 14 : étapes de méthode d'agglutination sur lame

6. Lecture et interprétation : Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après 1 min (**Figure 15**). La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti-*Brucella* égale ou supérieure à 1/80 (120 U.L/ml).

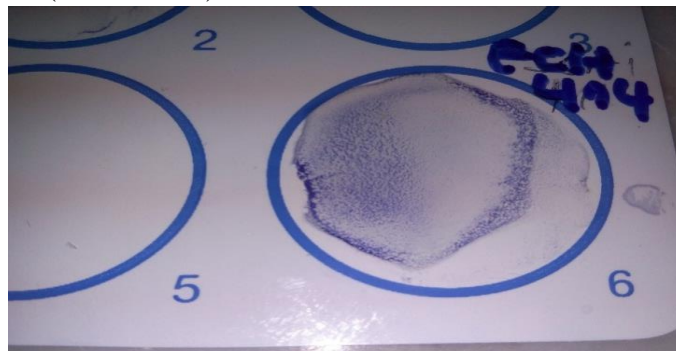


Figure 15 : La présence d'agglutination après 1 min d'agitation d'un échantillon infecté

Partie expérimentale

1.3.4.2.Méthode semi-quantitative

1. Mettre horizontalement les tubes de sérums testés positifs en mode qualitatif dans un porte-tubes (nous avons utilisés uniquement neufs sérums parmi les 19 sérums positifs).
2. Pour faire le titrage (dilution), mettre verticalement, quatre tubes devant chacun des tubes déposés horizontalement, numérotés de 1/80, 1/160, 1/320 et 1/640.
3. Déposer 1000 μ l de l'eau physiologique dans tous les quatre rangs horizontaux.
4. Éliminer 50 μ l de tous les tubes du quatre rangs.
5. Déposer 50 μ l de sérums dans les tubes de première rangé (1/80).
6. Prendre 50 μ l du tube de première rangé et déposer dans le tube correspondant de deuxième rangé (1/160), et 50 μ l du deuxième rangé déposé dans le troisième rangé (1/320), puis 50 μ l du troisième déposé dans le quatrième et on termine par l'écartement de 50 μ l 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 16,17**)
 - Agglutinats en crêpe dans le fond du tube avec liquide clair (+++).
 - Agglutinats très visibles avec liquide légèrement trouble (++)
 - Agglutinats visibles seulement à l'agglutinoscope (+).
 - L'absence d'agglutinats traduit une réaction négative (-).

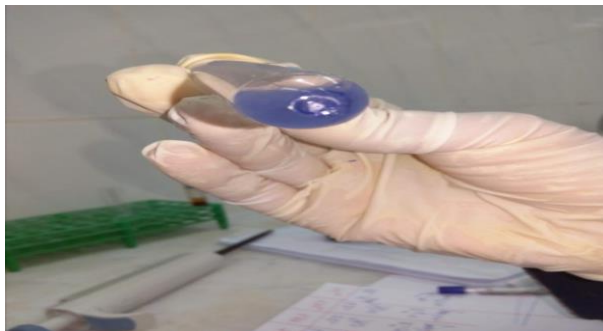


Figure 16: Résultats après 24 heures d'incubation



Figure 17: Tirage des résultats obtenus

Partie expérimentale

1.4. Récolte et analyse des données

Après avoir analysé les sérums via le test de sero-agglutination de Wright (SAW), nous avons procédé au premier lieu de calculer les taux de séroprévalence instantanée individuelle, le taux de troupeaux infectés. Nous avons aussi, analysé statistiquement l'association entre la variable dépendante (séropositivité) et certains facteurs de risque putatifs (variables explicatives).

D'autre part, on calcule le coefficient Kappa (κ) pour évaluer l'accordance entre nos résultats avec celles obtenus par le test ELISA réalisés sur les mêmes échantillons dans une étude précédente.

1.4.1. Calcul des taux de prévalence et des intervalles de confiance

Pour calculer le taux de séroprévalence individuelle apparente, nous avons utilisé la formule suivante (Thrustfield, M., 2007. *Veterinary Epidemiology*. 3rd ed, Blackwell Publishing, Oxford.):

$$\text{Prévalence apparente (PA)} = \frac{\text{Nombre d'animaux testés positifs}}{\text{Nombre d'animaux testés}}$$

Le taux de troupeaux infectés est le rapport entre le nombre des troupeaux présentés au moins un seul cas séropositif sur le nombre des troupeaux étudiés.

Les taux de séroprévalence calculés n'est que l'expression de la séroprévalence sous forme de pourcentage.

Les intervalles de confiance à 95% des pourcentages ont été établis à partir de la formule suivante :

$$IC = pA \pm 1.96 \sqrt{\frac{pA \times qA}{n}} ; \text{D'où :}$$

- pA : La prévalence apparente.
- $qA = (1 - pA)$.
- n : la taille de l'échantillon.

1.4.2. Analyse statistique

Les données recueillies après les analyses sérologiques ont été organisées et présentées graphiquement (sous forme de Diagrammes et Secteurs) par l'utilisation du logiciel Excel 2013. Ensuite, elles sont analysées statistiquement à l'aide de logiciel SPSS Statistics version 26 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

L'analyse statistique de sept facteurs de risque de nature qualitative (Présence d'avortement antécédent, facteur d'année, présence d'espèce caprine, avortement chez

Partie expérimentale

l'espèce caprine, sexe, catégories d'âge et vaccination anti-brucellique) a été effectuée en deux étapes. La significativité d'association statistique entre les variables explicatives qualitative et la variable indépendante (la séropositivité individuelle) a été initialement testée par le test de Khi-deux de Pearson (ou bien test de Fischer exact si un effectif théorique de table 2*2 est inférieur à 5). Ensuite, 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. Le modèle a été développé selon une approche pas à pas descendant, la significativité statistique des facteurs de risque étudiés dans le modèle final est retenue lorsque la valeur de p est inférieure à 5 % à des intervalles de confiance de 95%. La validation du modèle a été évaluée par le test d'adéquation d'Hosmer et Lemeshow (Hosmer et Lemeshow, 1989).

1.4.3. Test Kappa

Pour donner l'agrément à un test, comme il n'y a souvent pas de gold standard dans les tests diagnostiques, il est possible de prouver l'agrément entre deux tests, l'un étant la référence.

Le Test *Kappa* nous permet ici de mesurer l'agrément entre les tests sérodiagnostic de Wright et l'ELISA (considéré comme test de référence) au-delà de ce qui peut être attendu par la chance. Nous avons donc calculé le coefficient de *Kappa* (κ), qui chiffre l'intensité de l'accord réel entre des jugements qualitatifs appariés. Ce coefficient a un rang de 0 à 1, avec un agrément considéré comme modéré pour des valeurs autour de 0,4–0,5 et bon pour des valeurs supérieures à 0,5. Il se calcule avec la formule suivante (Bergeri, Michel, & Boutin, 2002):

$$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e} ; \text{ + d'où :}$$

- : la proportion d'accord observée entre les deux tests.
- : la proportion d'accord aléatoire, ou concordance attendue sous l'hypothèse d'indépendance des jugements.

L'interprétation de coefficient *Kappa* (Landis & Koch, 1977):

- $\kappa < 0$: Pas d'accord
- κ entre 0.00 et 0.20 : léger accord
- κ entre 0.21 et 0.40 : accord équitable
- κ entre 0.41 et 0.60 : accord modéré

Partie expérimentale

- entre 0.61 et 0.80 : accord substantiel
- κ entre 0.81 et 1.00 : accord presque parfait.

2. Résultats

2.1. Prévalence individuelle apparente

L'analyse de 357 sérums par la technique de Wright a révélé 19 sérums positifs à la présence des anticorps anti-*Brucella* spp., soit un taux de séroprévalence individuelle apparente de 5.32% (IC 95% : 2.99% – 7.65%) (**Figure 18**), et 338 sérums ont été testés négatifs.

2.2. Taux de troupeau infecté

Les analyses sérologiques effectuées pour les 38 troupeaux étudiés, nous a permis de détecter 12 troupeaux présentant au moins un cas séropositif, soit un taux de séropositivité de 31,57% (IC95%:16.79% – 46.35%) (**Figure 18**).

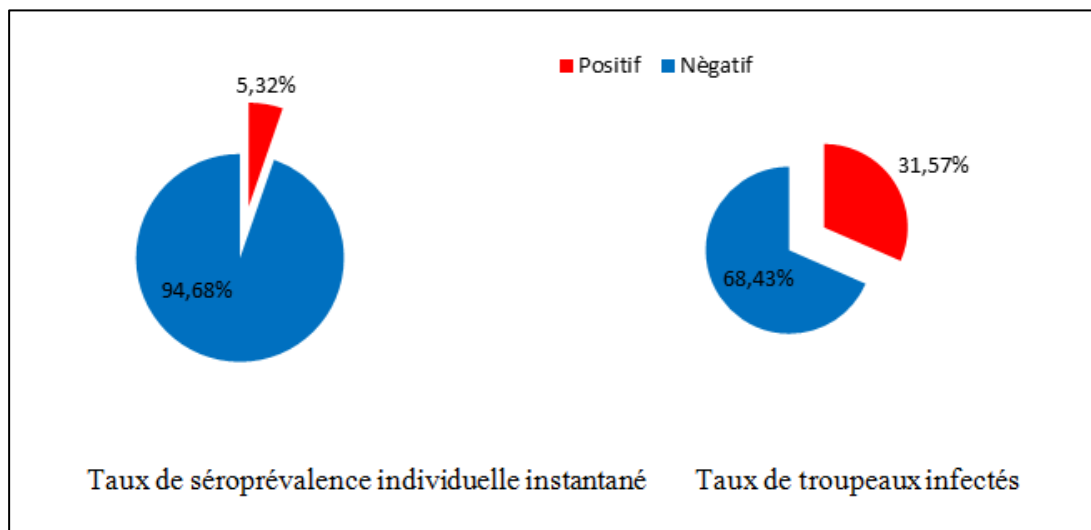


Figure 18 : Taux de séroprévalence individuelle et de troupeaux infectés

2.3. Distribution des résultats en fonction des facteurs de risque étudiés

2.3.1. Facteur présence d'avortement antécédent

Parmi les 357 échantillonnées dans la région d'étude, 140 brebis ont été déclarés avoir subi un avortement à la dernière gestation ; dont 11 sont révélées positives soit un taux de séropositivité de 7,86 %. Cependant, 209 brebis ont été soit gestantes ou allaitantes où monument de la prise des prélèvements sanguins (sans antécédents d'avortement), dont sept sont révélées positives (taux de séropositivité de 3,35%) (**Figure 19**).

Partie expérimentale

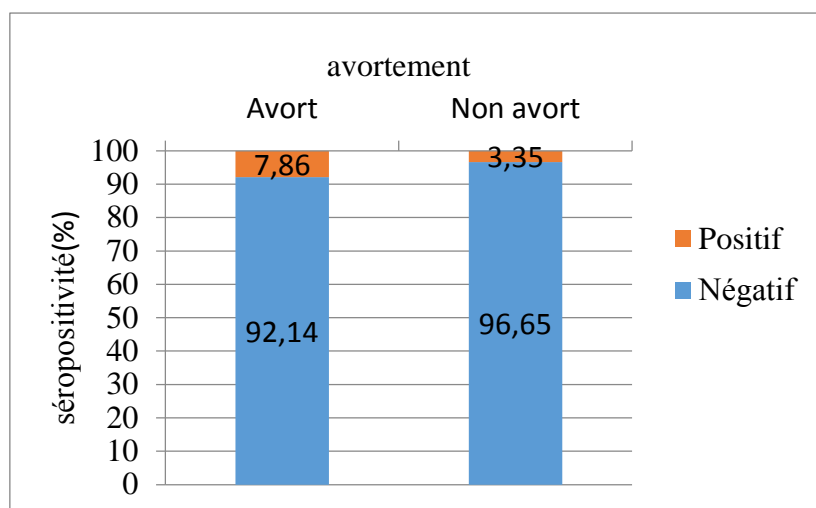


Figure 19 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction d'avortement chez les caprine.

2.3.2. Facteur de l'année

Au cours de la période d'étude s'étalant pour trois saisons de pic d'agnelage successives, 357 animales échantillonnées et les résultats obtenus après l'analyse sérologique se sont avérés comme suit (**Figure 20**):

- En 2015, 136 animales ont été échantillonnées, neuf se sont révélés positifs soit un taux de séropositivité de 6,62%.
- En 2016, Parmi les 96 animales échantillonnées, quatre se sont révélés positifs soit un taux de séropositivité de 4,17%, et
- 125 animales échantillonnées en 2017, six se sont révélés positifs soit un taux de séropositivité de 4,8 %.

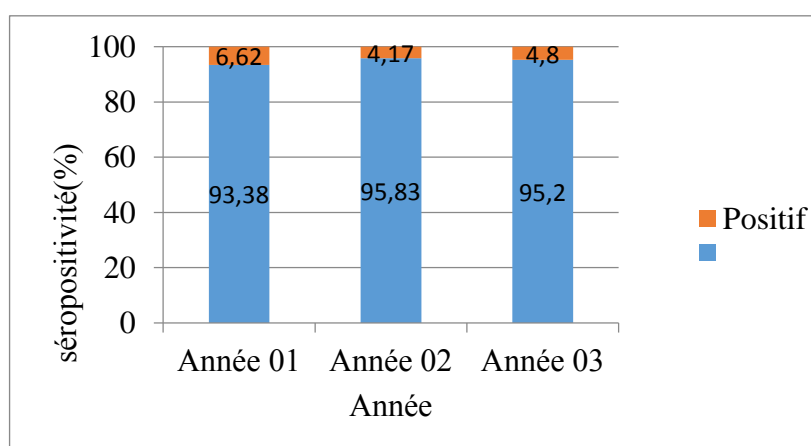


Figure 20 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction de période de prélèvement

Partie expérimentale

2.3.3. Facteur de présence d'espèce caprine

L'élevage des animaux étudiés, a été différent d'un cheptel à autre. 268 têtes échantillonnées sont en élevage mixte avec l'espèce caprine et 89 têtes sont en élevage exclusivement ovine. Les taux de séropositivités signalés après l'analyse sérologique ont été 3,73 % chez les animaux provenant d'élevage mixte et 10,11% chez les animaux d'élevage ovin.

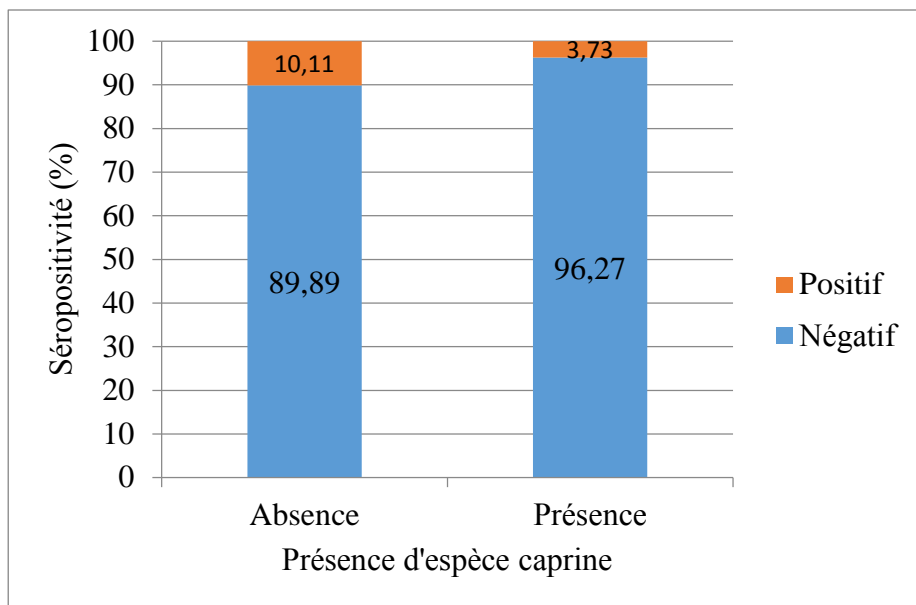


Figure 21 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction de présence des chèvres

2.3.4. Facteur de catégorie de parité

Les animaux échantillonnés sont classés en trois classes en fonction de nombre de parité (multipare, primipare et nullipare), les résultats sont avérés comme suite (**Figure 22**) :

- Parmi 255 animales multipares ; 13 animales se sont révélées positives, soit un taux de séropositivité de 5.10%.
- 73 brebis primipares, dont cinq se sont révélées positive, soit un taux de séropositivité 6.85%.
- 29 brebis nullipares dont un est révélée positive soit un taux de séropositivité de 3.45%.

Partie expérimentale

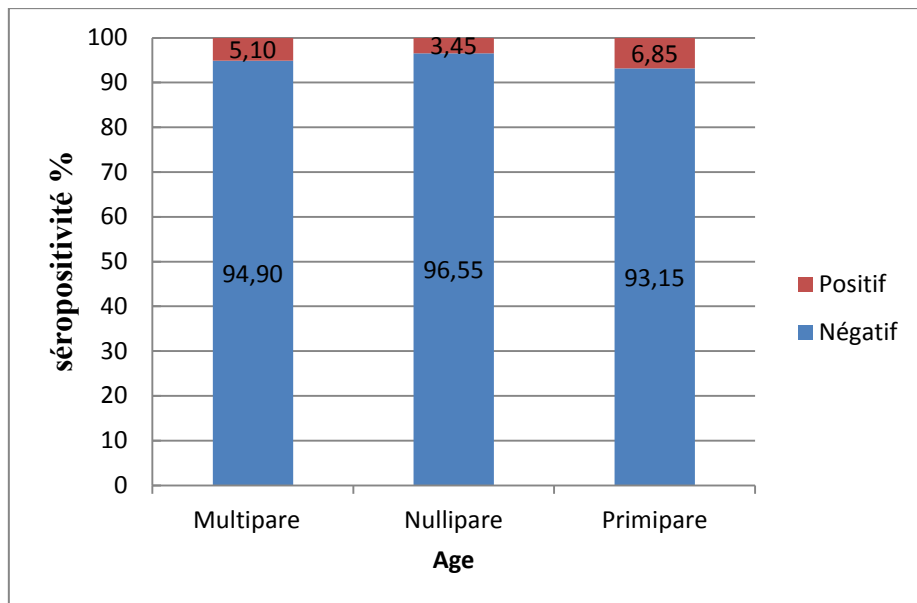


Figure 22 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction de l'âge

2.3.5. Facteur de sexe

Parmi les 357 Animaux échantillonnées dans la région d'étude ; 349 sont des brebis, dont 18 se sont révélées positifs, soit un taux de séropositivité de 5,16%. Cependant, un seul cas séropositif parmi les huit béliers testés (Taux de séropositivité de 12,5%).

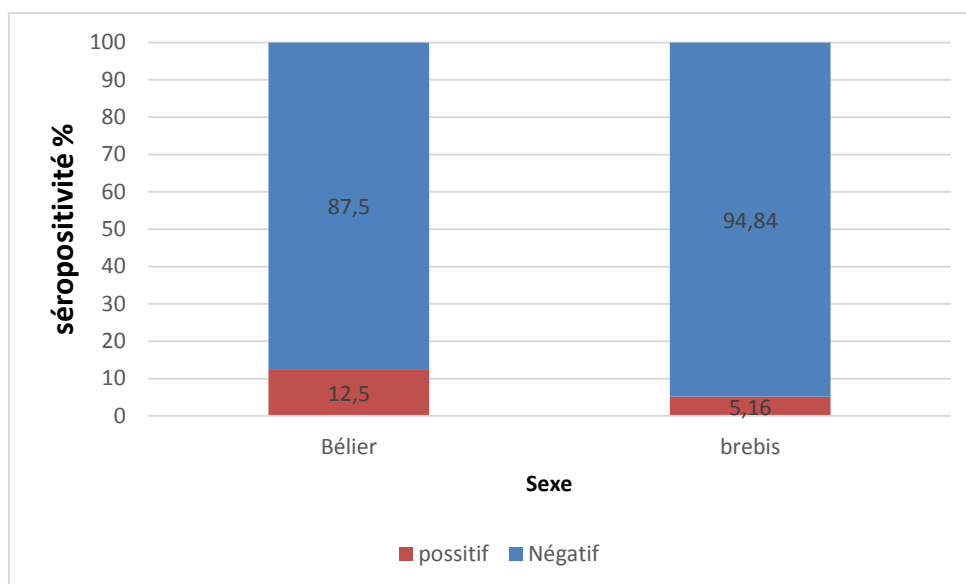


Figure 23: Distribution du taux de séroprévalence en fonction de sexe

Partie expérimentale

2.3.6. Vaccination anti-brucellique

Après l'organisation des résultats sérologiques avec la réponse des éleveurs interrogés (sur l'application des campagnes de vaccination anti-brucellique), nous avons signalé que 147 animales provenant du cheptel d'où la campagne est appliquée chaque année, dont cinq se sont révélées positives (taux de séropositivité de 3.40%) ; cependant, 179 sont provenant du cheptel d'où la vaccination n'est pas appliquée d'une manière régulière n'ont pas vacciné, dont 12 ce sont révélées positives, soit un taux de séropositivité de 6,70%.

Nous avons signalé aussi que 31 cas classés comme non déterminé (ND), car la réponse des éleveurs n'est pas claire, dont deux se sont révélées positives, soit un taux de séropositivité de 6,45%.

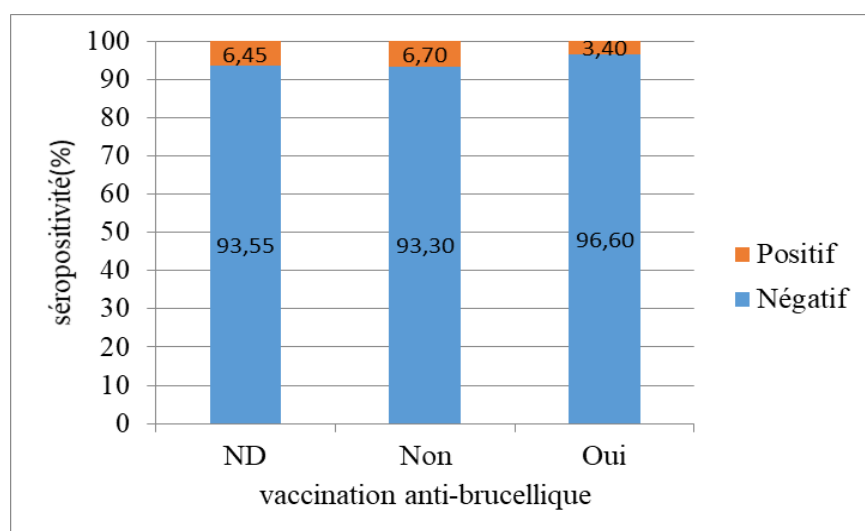


Figure 24 : Distribution du taux de séoprévalence en fonction de vaccination anti-brucellique

2.3.7. Facteur d'avortement chez l'espèce caprine

Dans notre étude, nous avons marqué que 120 animales (dont six sont révélées positives) ont été provenant des élevages communs avec l'espèce caprine d'où un problème d'avortement a été signalé chez les chèvres. Alors que, 237 animales (13 sont révélées positives) sont exploités dans un élevage uniquement ovine, soit élevage mixte mais sans problème abortif chez les chèvres.

Partie expérimentale

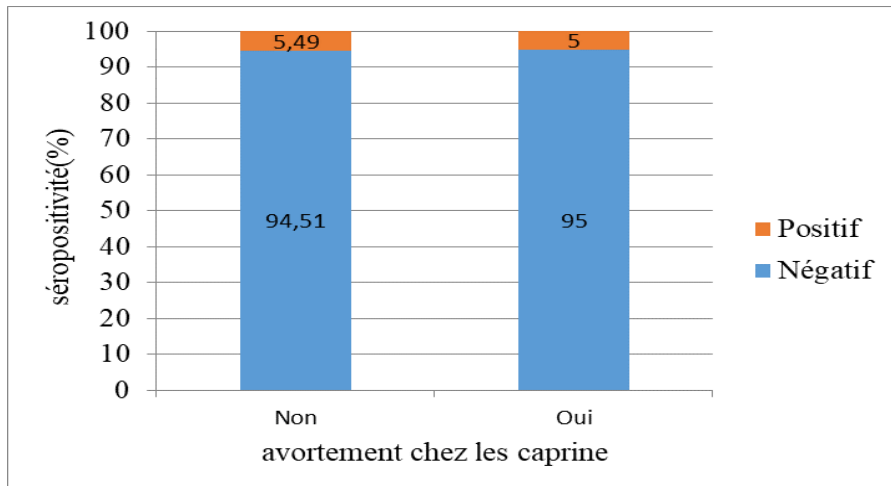


Figure 25 : Distribution du taux de séroprévalence en fonction d'avortement chez l'espèce caprine.

2.4. Titrage des anticorps

Le titrage des anticorps chez neuf cas positifs (méthode semi-quantitative), a montré que deux cas ont un titre de 1/320 (UI/ml), trois cas ont un titre de 1/160 (UI/ml) et quatre cas ont un titre de 1/80 (UI/ml) (Tableau 04).

Tableau 11 : Résultats de titrage de neuf cas positifs

N° de cas	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Titrage (UI/ml)	1/160	1/320	1/80	1/160	1/80	1/160	1/80	1/320	1/80

2.5. Analyses statistiques

L'analyse univariable a révélé que parmi sept facteurs de risque étudiés, seule deux variables (L'avortement antécédent et présence des chèvres) ont été associés statistiquement avec la séropositivité dont la valeur p est de 0.062 et 0.028 respectivement (**Tableau 04**).

Tableau 12 : Résultats d'analyse statistique univariable des facteurs de risque

Variable	Catégories	Numéro de testés	Numéro de positif (%)	Valeur <i>p</i>
1. Avortement antécédent	Oui	140	11	0.062
	Non	209	07	
2. Sexe	Bélier	8	01	0.357
	Brebis	349	18	Test Fisher
3. Présence de chèvres	Oui	268	10	0.028
	Non	89	09	Test Fisher
4. Avortement chez les chèvres	Oui	120	06	0.847
	Non	237	13	Test Fisher
5. Classe de mise bas	Nullipare	29	02	0.618 Test Fisher
	Primipare	72	05	
	Multipare	256	12	
6. Vaccination	ND	31	02	0.33 Test Fisher
	Oui	147	05	
	Non	179	12	
7. Période de prélèvement	1 ^{ère} Année (2015)	126	07	0.764 Test Fisher
	2 ^{ème} Année (2016)	104	04	
	3 ^{ème} Année (2017)	127	08	

Le modèle régression logistique multivariable (**Tableau 06**) a révélé que deux variables ont été associées significativement avec la séropositivité individuelle : Avortement antécédent ($p= 0.036$; $OR_{ajusté} = 2.913$, IC95% : 1.075 – 7.896) et présence de chèvre ($p= 0.01$; $OR_{ajusté} = 0.274$, IC95% : 0.103 – 0.730).

Tableau 13 : Résultats de modèle de régression logistique multivariable.

<i>Facteur</i>	<i>OR ajusté</i>	<i>IC 95% OR</i>	<i>Valeur p</i>
1. Avortement antécédent :			
• Non	1.00 (référence)		
• Oui	2.913	1.075–7.896	0.036
2. Chèvres dans les troupeaux :			
• Absence	1.00 (référence)		
• Présence	0.274	0.103–0.730	0.010

2.6. Comparaison de résultats

Les analyses sérologiques par le test SAW étant réalisées et comparées avec celles obtenue par le test ELISA réalisés sur les mêmes prélèvements et dans une période précédente. L'accordance observée entre les deux tests a été trouvée dans neuf cas positifs et 318 cas négatifs. Alors que, les résultats de 30 sérums ont été discordants entre les deux tests (Tableau 6).

La mesure d'accord entre les résultats de deux tests par le coefficient Kappa de Cohen a donné une valeur de $\kappa = 0,332$ et ($p = 0,00$ IC 95% 0.211-0.494), calculé à l'aide de logiciel SPSS 26.

Tableau 14 : Tableau contingence pour les résultats de deux tests (SAW et ELISA)

		Test SAW		Total
		Négatif	Positif	
Test ELISA	Négatif	318	10	328
	Positif	20	9	29
	Total	338	19	357

3. Discussion

Dans cette étude, l'utilisation de technique de SAW pour détecter les anticorps anti-*Brucella* spp. dans la région de Tébessa, a présenté un taux de séropositivité de 05.32 %. Ce résultat est inférieur à celui trouvé dans une étude précédente effectuée sur 376 prélèvements (dont les 357 prélèvements de cette étude) d'où le taux de séropositivité est de 08.24% par l'utilisation de technique d'ELISA (**BENLAKEHAL donnée non publiée**).

Il est également supérieur aux résultats des études menées dans différents régions de l'Algérie ; par (**Gabli, 2015**) dans les wilayet de Sétif et Batna, par **Aggad, 2003** dans la région de Tiaret et par (**Nehari et al, 2014**) dans la région d'El Bayadh ; d'où les taux de séroprévalence sont de 0.98%, 2.6% et 3% respectivement. Le taux de prévalence individuelle instantanée est aussi inférieur aux résultats trouvés dans différentes études menées dans d'autres pays : en Iraq avec un taux de séroprévalence de 14.46% (**Bifo et al 2020**), et à celle trouvé par (**Al-Sherida et al., 2021**) (07%) dans le pays de Kuwait. Notre résultat est également supérieur à ceux trouvés dans quelques études menées dans des pays africains comme par exemple celle menée au Cameroun avec un taux de séroprévalence de 2.2% (**Shey-Njila et al ,2005**).

Les variations de taux de prévalence trouvés dans différentes études, peuvent résider dans le fait que, (*i*) les variations climatiques et écologiques et les techniques d'élevage qui se différent d'une région à une autre ; (*ii*) la technique de diagnostique utilisée d'où la spécificité et la sensibilité peuvent parfois varier entre les tests et même intra-test dans la mesure où pour le même test le seuil de positivité (*Cut-Off*) peut changer d'une étude à une autre et tout comme (*iii*) la taille d'échantillons et le procédure d'échantillonnage peuvent être à l'origine de résultats différents (**N,Acha et al 2001**) (**Traoré,S et al ,2021**)

Les résultats de cette étude confirment la présence de brucellose ovine dans la région de Tébessa, une zoonose majeure à déclaration obligatoire. Cependant, vue de l'absence des informations exactes sur la sensibilité et la spécificité de test utilisé, ça ne permet pas d'extrapoler le taux de séroprévalence enregistré dans la présente étude pour comprendre la fréquence exacte de l'infection à *Brucella* spp. dans la population ciblée. Alors que, la distribution géographique de cheptels étudiés sur les communes de wilaya (dans 75% de communes de la wilaya sont concernées), ainsi la proportion élevée de troupeaux séropositifs (31.57%) présentent une forte fréquence de l'infection à *Brucella* spp. chez l'espèce ovine

Partie expérimentale

dans la région de Tébessa. De plus, le résultat de l'analyse statistique renforce le résultat obtenu.

Le modèle final de régression logistique a montré d'un part que, l'avortement en dernière gestation est considéré comme un facteur de risque putatif associé significativement avec la séropositivité individuelle ($OR_{\text{ajusté}} = 2.913$, $IC_{95\%} : 1.075 - 7.896$; $p = 0.036$), cela confirme un rôle potentiel de germe *Bruella* spp. dans l'avortement chez l'espèce ovine, mais d'autres facteurs peuvent perturber cette association statistique, car la présence des anticorps dans le sang de l'animal indique seulement le passage de cette bactérie dans le sang de l'animal et n'indique pas forcément un effet pathogène de bactérie au moment de prélèvement, pour confirmer l'effet abortif de ce germe il faut utiliser des techniques de diagnostic directe (Bactériologie, PCR) et pas de technique indirecte. Ainsi, la possibilité de présence d'autres agents abortifs (*Chlamydophila* spp., *Toxoplasma gondii*, le virus de Border disease ou bien d'autres).

D'autre part, la présence de chèvre en même élevage avec les brebis échantillonnées est considéré comme un facteur protectif de la séropositivité individuelle ($OR_{\text{ajusté}} = 0.274$, $IC_{95\%} : 0.103 - 0.730$; $p = 0.01$). Cette observation inattendue, nécessite des études ultérieures pour bien comprendre et bien expliquer cette association statistique. Notre suggestion pour expliquer cette association est que la qualité d'hygiène d'élevage est meilleure en élevage mixte que celui dans le cas où l'élevage est uniquement ovin ou caprin.

Dans cette étude, la concordance entre les résultats de deux tests (ELISA et SAW) a montré un accord équitable ($\kappa = 0,332$). Ainsi le titrage de neuf sérums positifs, d'où deux sérums ont été positifs à un titre de 1/160 et l'autre à un titre de 1/320, qui sont probablement des infections aiguës. Ces deux résultats indiquent la difficulté de détecter et distinguer entre les anticorps vaccinaux à celui d'une infection naturelle. A cet effet, des études ultérieures semblent nécessaires, pour évaluer les performances de tests sérologiques (sensibilité et spécificité) sur terrain dans notre région.

Conclusion

Conclusion

Cette étude a mis en évidence existence des anticorps anti *Brucella* spp. chez l'espèce ovine, dans la région de Tébessa. Cela confirme à la fois, que le programme de lutte mis en place contre la brucellose en Algérie n'était pas suffisamment efficace, et qu'une grande partie de cheptel encore atteint.

Le dépistage des cas brucellique devrait être difficile à l'aide d'un test peu couteux comme le Séro-agglutination de Wright.

Références Bibliographiques

- Adamou, H.H. 2014. "Evaluation de Trois Tests de Dépistage de La Brucellose Bovine Pour Une Aide Décisionnelle de Contrôle de La Maladie Dans Le Bassin Laitier de Niamey (Niger)."
- Aggad, H, and L Boukraa. 2006. "Prevalence of Bovine and Human Brucellosis in Western Algeria : " 12: 119–28.
- Ahasan, Shamim, Siddiqur Rahman, and A K M Anisur Rahman. 2017. "Bovine and Caprine Brucellosis in Bangladesh : Bayesian Evaluation of Four Serological Tests , True Prevalence , and Associated Risk Factors in Household Animals." *Tropical Animal Health and Production*: 1–11. <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-016-1151-1>.
- Aigu, Phase Initiale. 1986. "Brucellose." (tableau 3).
- Akakpo, Ayayi Justin, Assiongbon Têko-agbo, and Philippe Koné. 2009. "L ' Impact De La Brucellose Sur L ' Économie Et La Santé Publique En Afrique." *Conf. OIE*: 71–84. <https://www.oie.int/doc/ged/D9761.PDF>.
- Akakpo, D. B. et al. 2020. "Evaluating the Effects of Storage Conditions on Dry Matter Loss and Nutritional Quality of Grain Legume Fodders in West Africa." *Animal Feed Science and Technology* 262(January): 114419. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114419>.
- Al-majali, Ahmad M, Abdelsalam Q Talafha, Mustafa M Ababneh, and Mohammed M Ababneh. 2009. "Veterinary Science Seroprevalence and Risk Factors for Bovine Brucellosis in Jordan." (May 2014).
- Al-Sherida, Yousef et al. 2020. "Sheep Brucellosis in Kuwait: A Large-Scale Serosurvey, Identification of Brucella Species and Zoonotic Significance." *Veterinary Sciences* 7(3).
- Aznar, M N, L E Samartino, M Humblet, and C Saegerman. 2012. "Bovine Brucellosis in Argentina and Bordering Countries : Update." : 1–13.
- Baddour, A, Konstantinos Sousounis, and Panagiotis A Tsonis. 2012. "Organ Repair and Regeneration : An Overview." 29(Part C): 1–29.
- Baldi, P. C., and G. H. Giambartolomei. 2013. "Pathogenesis and Pathobiology of Zoonotic Brucellosis in Humans." *OIE Revue Scientifique et Technique* 32(1): 117–25.
- Benkirane, A. 2001. "Surveillance Épidémiologique et Prophylaxie de La Brucellose Des Ruminants : L'exemple de La Région Afrique Du Nord et Proche-Orient." *OIE Revue Scientifique et Technique* 20(3): 757–67.
- Bifo, Hadji et al. 2020. "Sero-Prevalence and Associated Risk Factors of Bovine Brucellosis in Sendafa, Oromia Special Zone Surrounding Addis Ababa, Ethiopia." *PLoS ONE*

Références bibliographique

- 15(11 November): 1–12. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0238212>.
- Boukary, Abdou Razac. 2013. “Epidémiologie de La Brucellose et de La Tuberculose Animales Dans Les Milieux Urbain, Périurbain et Rural Au Niger.” : 1–212. [papers3://publication/uuid/7A3A8E95-A583-4B59-B324-3AB88BACAD58%0Apapers2://publication/uuid/53BE8DF4-4E36-4470-A24B-CAA659C22866](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24888888/).
- . 2013. “Seroprevalence and Potential Risk Factors for Brucella Spp . Infection in Traditional Cattle , Sheep and Goats Reared in Urban , Periurban and Rural Areas of Niger.” 8(12): 1–12.
- BOURNE, F. M., M. PANISSET, and D. H. STARKEY. 1964. “La Brucellose.” *L'union médicale du Canada*93: 1367–73.
- Corbel, MJ M.J. 2006. “Brucellosis in Humans and Animals Brucellosis in Humans and Animals.” *WHO Library catalogue in publication Data*: 1–88.
- Des, Manuel et al. 2008. 1 *ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ ANIMALE VACCINS POUR LES ANIMAUX TERRESTRES (Mammifères , Oiseaux et Abeilles) Sixième Édition*.
- Egziabher, Tewolde Berhan Gebre, and Sue Edwards. 2013. “濟無No Title No Title.” *Africa's potential for the ecological intensification of agriculture* 53(9): 1689–99.
- Fox, Sharon E. et al. 2013. “Neural Processing of Facial Identity and Emotion in Infants at High-Risk for Autism Spectrum Disorders.” *Frontiers in Human Neuroscience* 7(APR 2013): 1–11.
- Godfroid, Jacques, Bruno Garin-bastuji, Claude Saegerman, and Jose M Blasco. 2013. “Brucellose Chez La Faune Terrestre.”
- Godfroid, Jacques, and Annemarie Käsbohrer. 2002. “Brucellosis in the European Union and Norway at the Turn of the Twenty-First Century.” *Veterinary Microbiology* 90(1–4): 135–45.
- Gov.uk. 2013. Gov.Uk *Health Protection Agency*.
- Gwida, Mayada, Al Dahouk, Falk Melzer, and Uwe Rösler. 2010. “Brucellosis – Regionally Emerging Zoonotic Disease ?” : 289–95.
- Hdia, L et al. 2009. “Estimation Du Taux d'infection Brucellique Caprine Dans Deux Gouvernorats Du Sud de La Tunisie [Estimation of the Rate of Goat Brucellosis Infection in Two South Governorates of Tunisia].” *Recueil des Ateliers d'Épidémiologie animale* 1(1): 53–59.

Références bibliographique

- Hoffbauer, M A et al. 2004. "Ultralong Single-Wall Carbon Nanotubes." : 673–76.
- Li, De, and Willy Coordinateur. 2012. "Revue Éducation & Formation."
- Lucchese, Matteo, and Leopoldo Nascia. 2016. "Industrial Policy and Technology in Italy." *Economia e Politica Industriale* 43(3): 233–60.
- Lyon, Campus Veterinaire D E. 2012. "Vetagro Sup." (38).
- Maurin, M. 2005. "Brucellosis at the Dawn of the 21st Century." *Medecine et Maladies Infectieuses* 35(1): 6–16.
- Maurin, M, and J Brion. 2009. "Et Bioterrorisme." : 1–12.
- MOLTO, Nelly Laure. 2010. "Les Maladies Réglementées Chez Les Primates." 5: 301.
- Moriyón, Ignacio et al. 2004. "Vaccins Bruts Dans La Brucellose Animale : Structurelle et Base Génétique et État Actuel Pour Citer Cette Version : Id HAL : Hal-00902811 Structurelles et Génétiques et État Actuel."
- Naouel, Mebarki et al. "Étude de La Séroprévalence de l' Infection à Brucella Spp . Chez l' Espèce Ovine Dans La Région de Tébessa."
- (N. Acha and B. Szyfres, Brucellosis, zoonoses and communicable disease 647 common to man and animals, vol. I, Pan American Organization, Washington, DC, USA, 3rd 648 edition, 2001). Olsen, S. C. (2013). *Recent developments in livestock and wildlife brucellosis vaccination*(Vol. 32). Revue scientifique et technique de l'OIE
- Olsen, Steven, and Fred Tatum. 2010. "Bovine Brucellosis." *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 26(1): 15–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.006>.
- Refai, Mohamed. 2002. "Incidence and Control of Brucellosis in the Near East Region." 90: 81–110.
- Reynier, Elise. 2013. "La Biosécurité Dans Les Élevages Bovins Laitiers." : 1–49.
- Ring, Réf. "Ring Test (Test de l'anneau)." : 91150.
- Rossetti, Tom et al. 2017. "Memory Erasure Experiments Indicate a Critical Role of CaMKII in Memory Storage." *Neuron* 96(1): 207-216.e2. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.010>.
- Roux, J. 1979. "Epidemiologie Et Prevention De La Brucellose." *Bulletin of the World Health Organization* 57(2): 179–94.
- Saegerman, Claude. 2014. "Brucellosis in Sub-Saharan Africa." (January).

Références bibliographique

- Sanogo, M. et al. 2008. “Prévalence Réelle de La Brucellose Bovine Dans Le Centre de La Côte d’Ivoire.” *Revue d’élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 61(3–4): 147.
- Seleem, Mohamed N, Stephen M Boyle, and Nammalwar Sriranganathan. 2010. “Microbiologie Vétérinaire Brucellose : Une Zoonose Réémergente.” 140: 392–98.
- Shey-Njila, O. et al. 2005. “Enquête Sérologique de La Brucellose Bovine Au Cameroun.” *Revue d’élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 58(3): 139.
- Sibille.C.M. 2006. “Contribution à l’ Étude Épidémiologique de La Brucellose Dans La Province de l’ Arkhangai (Mongolie).” : 1–149.
- Sidhoum, Nadra. 2019a. “Enquête Épidémiologique de La Brucellose Animale et Humaine. Cas de La Wilaya de Mostaganem.”
- . 2019b. “Enquête Épidémiologique de La Brucellose Animale et Humaine. Cas de La Wilaya de Mostaganem.”
- Su, Marcela, Esteban Chaves-olarte, Edgardo Moreno, and Caterina Guzm. 2020. “Brucella Génomique : Macro et Micro Évolution.” : 1–23.
- Taktaz, T. Hafshejani, F. Khamesipour, A. Heydari, and S. Katsande. 2015. “Molecular Prevalence of Brucella Abortus, Actinomyces Pyogenes and Mycobacterium Tuberculosis in Reproductive Organs of Apparently Healthy Rams Slaughtered in Iran.” *Revue de Medecine Veterinaire* 166(5–6): 132–37.
- Thys, Eric et al. 2005. “Etude de La Prévalence de La Brucellose Bovine En Zone Forestière de La Côte d’Ivoire.” *Revue d’élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 58(4): 205.
- Toubal, N. et al. 2018. “Cas Clinique N°1 : Neurobrucellose Dans l’extrême Est Algérien : Profil Clinique, Para Clinique et Thérapeutique à Propos de 14 Cas.” *Revue Neurologique* 174: S162–63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurol.2018.02.011>.
- Traoré, S., Yapi, R. B., Coulibaly, K., Mathew, C., Fokou, G., Kazwala, R. R., Bonfoh, B., & Alambedji, R. B. (2021). Seroprevalence of brucellosis in small ruminants and related risk behaviours among humans in different husbandry systems in Mali. *PLoS ONE*, 16(1 January), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245283>).
- Valette, L. 1987. “Prophylaxie Médicale de La Brucellose Animale.” *Revue d'elevage et de medecine veterinaire des pays tropicaux* 40(4): 351–64.