



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tébessi –Tébessa.  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie appliquée



**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Thème :**

**Étude de la séroprévalence de l'infection à  
*Brucella* spp. chez l'espèce : ovine, caprine  
et bovine dans la région de Tébessa**

**Présenté par :**

**DJEDOUANI Hakim**

**SI SAID Nabila**

**Devant le jury :**

<b>M. MECHAI Abd Elbaset</b>	MCA	Université de Tébessa	Président
<b>M. BENLAKEHAL Amar</b>	MAA	Université de Tébessa	Rapporteur
<b>M<sup>me</sup> BELBEL Zineb</b>	MCB	Université de Tébessa	Examinatrice

**Date de soutenance :**

18 Juin 2019

### الملخص

الحمى المالطية هي مرض معدٍ، شائع في العديد من الأنواع الحيوانية والبشر، وذلك بسبب بكتيريا نوع البروسيلا. أجرينا دراسة عرضية على مستوى ولاية تبسة، خلال الفترة بين سبتمبر 2018 ومايو 2019، على 303 عينة مصلية من الأبقار والماعز والأغنام، للكشف عن وجود أجسام مضادة للبروسيلا عن طريق استخدام مستضد بنفسي البينغال. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها معدل الانتشار المصلي الفردي الإجمالي 7.84 %، (IC95% 5.38%–11.51%) ستة قطعان لديها على الأقل نتيجة واحدة ايجابية، التحليل الإحصائي يوضح أن الإجهاض في آخر ولادة تملك ارتباط قابل للتعميم مع ايجابية المصل. (OR = 4.97, 95% CI ; p =0,001). هذه الدراسة تؤكد وجود أجسام مضادة ضد البروسيلا في منطقة تبسة.

أفضل وسيلة للسيطرة هي وقائية، بناءً على نتائج الكشف الفردي للحيوان يتم التخلص من الحيوان المصاب بعد التأكد من النتيجة بإختبار آخر وتلقيح الحيوان السليم. الإرشاد والتوعية لهم دور هام للوقاية من خلال التحسيس والحث على اتخاذ تدابير النظافة الشخصية، والإمتناع عن إستهلاك منتجات الألبان غير المبسترة ومجهولة المصدر.

### الكلمات المفتاحية:

الحمى المالطية، البروسيلا، الأبقار، الماعز، الغنم، مستضد بنفسي البينغال، تبسة.

### Abstract

Brucellosis is a contagious, infectious disease; common to Human and many animal species ; caused by bacteria of the genus *Brucella* spp. A cross-sectional study was conducted at the wilaya of Tébessa, during the period of September 2018 to May 2019. 303 blood samples were collected from bovine, goat and sheep species, to detect the presence of antibodies anti-*Brucella* spp. by using the Rose Bengal Test. The results obtained showed an individual seroprevalence rate of 7.84% (IC 95% 5.38%–11.51%), six herds have at least one seropositive animal. Statistical analysis has shown that presence of abortion in the latest gestation has a significant association with seropositivity (OR = 4.97;  $p=0,001$ ). This study confirmed the presence of antibody anti-*Brucella* spp. in the region of Tébessa.

Measures to fight against the brucellosis is preventive ; in the first place the screening with systematic slaughter of seropositive animal after a confirmation by a more specific test and vaccination of the healthy animal. Public awareness is of paramount importance for citizens to take hygienic measures, and to avoid the consumption of dairy products, if it unpasteurized or unknown origin.

**Keywords:** *Brucella* spp, bovine, goat, sheep, Rose Bengal, Tébessa.

## Résumé

### Résumé

La brucellose est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'Homme, due à une bactérie du genre *Brucella* spp. Une étude transversale a été menée au niveau de la wilaya de Tébessa, pendant la période : Septembre 2018 à Mai 2019, sur un échantillon de 303 prélèvements sanguins d'espèces bovine, caprine et ovine ; pour dépister la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. via l'utilisation de test d'Epreuve de l'Antigène Tamponné (EAT) ou Rose Bengale. Les résultats obtenus a montré un taux de séroprévalence individuelle de 7.84% (IC 95% 5.38%–11.51%), six troupeaux ont au moins un cas séropositif. L'analyse statistique a montré que l'avortement antécédent en dernière gestation a une association significative avec la séropositivité (OR = 4.97 ; IC 95% ;  $p=0,001$ ). Cette étude a confirmé la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. dans la région 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 :

*Brucella* spp., bovine, caprine, ovine, Rose Bengale, Tébessa.

## *Résumé*

## Remerciement

### Remerciement

*Tout d'abord, on tient à remercier le bon Dieu le tout Puissant de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

*Nous voulons avant tout exprimer notre gratitude à notre encadreur M. BENLAKEHAL Amar pour avoir accepté de nous encadrer, dans cette étude. Nous la remercions pour son implication, son soutien, et ses encouragements au long de ce travail.*

*Aux membres du jury :*

*Président du jury: me Mechai Abd Elbast*

*Examineur: BELBEL Zineb*

*Un merci à tous les enseignants qui ont contribué au succès de notre stage et qui ont contribué à la rédaction de cette mémoire.*

Dédicaces

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Je dédie ce mémoire Djedouani Hakim aux deux personnes que j'ai tant aimé, Respecté et chéri, Ma mère et mon père, qui ont tout épuisé pour que je réussisse.*

*Ces chers parents. Qu'aucune dédicace ne serait témoin de mon profond amour, mon immense gratitude et mon plus grand respect car on ne pourrait jamais oublier la tendresse et l'amour dévoué par lesquels ils m'ont toujours entoure depuis mon enfance.....*

*J'offre ce modeste travail :*

*A mes frères : ABD ELGANI, MOHAMMED ET ELKHAIR*

*A mes sœurs, A toute la famille DJEDOUANI.*

*A mes très chers amis (es).*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail SI SAÏD Nabila :*

*A ma mère Si Saïd Tarkuía*

*Je suis à ce stade grâce à ta bénédiction tes doux et précieux conseils qui m'ont toujours aidé dans la vie. Il n'y a pas de mots exacts pour t'exprimer mes sentiments envers toi.*

*Que ce mémoire soit pour toi le fruit de tant de peines et de sacrifices ! .  
Bonheur et longue vie à toi chère Maman.*

*A mon père Si Saïd Abdelaziz*

*Homme de principe admiré de tous ces semblables de ses œuvres et son sens humaniste.*

*Durant tout ce temps, tu t'es battu à ce que je ne manque de rien pour mener à bien mes études.*

*Les mots ne me suffiront jamais pour exprimer ce que tu représentes pour moi. A mon tour cher père, par ce travail, je ne cesserai de t'honorer. Que le tout puissant te prête une longue vie pour goûter le fruit de ce travail.*

*A mes Sœurs et frères : Basma, sabrin, Djiji , nadir et hamza*

*A mes tantes et oncles surtout Tarik et Mohamed et tous mes cousins et Cousines*

*Enfin à tout mes amis (es).mon binôme hakim. Dr Oussama .Ikhlasse .Manel [H]. Basma. Amira. Abla. Marwa. Safa. Khawla. Nawel. Sana. Souad .amira . Nihad. Chayma. Lotfi.*



## *Liste de figures*

### **Liste de figures**

<b>Figure 1:</b> Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa	20
<b>Figure 2:</b> Coagulation de sang et décantation des sérums dans les seringues 5cc. ....	21
<b>Figure 3:</b> Réactif de Rose Bengale .....	23
<b>Figure 4:</b> Contrôle positif et négatif de Rose Bengale. ....	23
<b>Figure 5:</b> Cas positifs et négatifs de quelques échantillons.....	24
<b>Figure 6:</b> Taux de séropositivité individuelle totale et de chaque espèce. ....	25
<b>Figure 7:</b> Nombre de troupeau infecté total et de chaque espèce.....	26
<b>Figure 8 :</b> Distribution de séropositivité en fonction d'espèce ..... <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
<b>Figure 9:</b> Distribution de séropositivité en fonction de sexe.....	28
<b>Figure 10:</b> La séropositivité en fonction de présence ou d'absence d'avortement..... <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
<b>Figure 11:</b> Distribution de séropositivité en fonction de catégorie d'âge .....	29

**Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Comparaison des différentes méthodes de diagnostic de la Brucellose .....	17
<b>Tableau 2 :</b> la distribution des animaux échantillonnés et séropositifs en fonction d'espèce dans les différentes communes.....	26
<b>Tableau 3 :</b> Résultat des analyses statistiques.....	30

## *Liste d'abréviations et symboles*

## Liste d'abréviations et symboles

### Liste d'abréviations et symboles

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique.

**AVSF** : Agronomes et Vétérinaires Sans Frontières.

**B** : *Brucella*.

**BV**: Bovins.

**BPAT**: Buffered Plate Agglutination Test.

**CD4+** : Cluster de différenciation 4 (lymphocytes T).

**CD8+** : Cluster de différenciation 8.

**CP**: Caprins.

**DDPP** : Direction Départemental de la Protection des Populations.

**ELISA**: Enzyme like Immuno Sorbent Assay.

**FC/CFT** : Complément Fixation Test.

**LPS**: LipoPolySaccharide.

**MRC** : Maladie réputées contagieuses.

**OV** : Ovins.

**OMS** : l'organisation mondiale de la santé.

**OIE** : Office International des Epizooties.

**PCR**: Polymerase Chain Reaction.

**RBT** : Rose Bengale Test.

**R-LPS** : Lipo-Poly-Saccharide sous forme « rough ».

**SAT** : Séro-Agglutination Test.

**Spp** : société psychanalytique de paris .

**S-LPS** : Lipo-Poly-Saccharide sous forme « smooth ».

**%** : Pourcent.

**IC** ; intervalle de confiance.

**OD** : Odds ratio

**P** : Valeur P

**°C** : Degré de Celsius

**PH** : Potentiel Hydrogène.

**ml** : Millilitre

**µL** : Microlitre

**X<sup>2</sup>** : khi de

## Sommaire

Résumé  
Remerciement  
Dédicace  
Liste des figures  
Liste des tableaux  
Liste des abréviations et symboles.  
Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Historique.....</b>	<b>2</b>
<b>2. Étiologie.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>2.1. Classification.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2. Principaux caractères bactériologiques.....</b>	<b>3</b>
<b>3. La brucellose animale : Pathogénique et Clinique. ....</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Brucellose bovine.....</b>	<b>4</b>
3.1.1. Pathogénie.....	4
3.1.2. Clinique bovine.....	5
<b>4. Epidémiologie de la brucellose.....</b>	<b>7</b>
<b>5. Importance Socio-économique.....</b>	<b>8</b>
<b>6. Méthodes diagnostiques.....</b>	<b>9</b>
<b>7. Prophylaxie.....</b>	<b>18</b>
<b>1. Matériel et Méthodes.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1. Présentation générale de la région d'étude.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins.....</b>	<b>20</b>
1.2.1. Période d'étude.....	20
1.2.2. La taille d'échantillon.....	20
1.2.3. Animaux.....	21
1.2.4. Prélèvements sanguins.....	21
<b>1.3. Test sérologique.....</b>	<b>21</b>
1.3.1. Description et principe.....	22
1.3.2. Réactif.....	22
1.3.3. Matériels nécessaire.....	22
1.3.4. Mode opératoire.....	22
1.3.5. Précautions.....	22
1.3.6. Interprétation des résultats.....	23

## Sommaire

<b>1.4. Récolte et analyse des données</b> .....	23
1.4.1. Calculs des taux de séroprévalence et des intervalles de confiance .....	24
1.4.2. Analyse statistique.....	24
<b>2. Résultats</b> .....	25
<b>2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente</b> .....	25
<b>2.2. Taux de troupeau infecté</b> .....	25
<b>2.3. Les facteurs de risque associés à la présence des Anticorps anti-<i>Brucella</i> spp.</b> .....	26
2.3.1. Facteur d'espèce .....	26
2.3.2. Facteur de sexe .....	26
2.3.3. Facteur présence d'avortement antécédent en dernière gestation.....	28
2.3.4. Facteur de classe d'age.....	29
<b>2.4. Résultats d'analyse statistique</b> .....	29
<b>3. Discussion</b> .....	31

## Introduction

La brucellose est une antroozoonose, due à des bactéries du genre *Brucella* spp. de distribution cosmopolite ; l'incidence de cette maladie est estimée en 2001 à 500 000 cas/an [49]. La maladie ayant de graves conséquences sur la santé humaine et les revenus des éleveurs. Chez l'animal, la maladie se définit comme une maladie d'évolution chronique touchant principalement les organes de la reproduction et provoque plusieurs manifestations cliniques, dont l'avortement et l'infertilité chez les animaux de rente sont les signes les plus fréquents.

Le diagnostic et le dépistage de cette maladie s'effectue par deux méthodes différentes (i) directe, comme les réactions d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) et le diagnostic bactériologique ; ces techniques sont généralement caractérisées par une sensibilité et spécificité très élevée, mais se sont des tests lourds et non recommandés sur une grande échelle. À cet effet (ii) les tests indirects (sérologiques) ont l'avantage d'être automatisable et applicable au dépistage à grande échelle avec une sensibilité et spécificité modérées ; parmi ces tests, l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Sérodiagnostic de Wright et l'épreuve à l'antigène tamponné (Rose Bengale), ce dernier est également un test de dépistage indirect, rapide et applicable pour un grand nombre d'échantillon.

En Algérie la brucellose s'inscrit dans la liste des maladies animales à déclaration obligatoire [24] ; certaines régions de notre pays ont un état de forte endémicité notamment les hauts plateaux et les zones pré-steppiques. Plusieurs études ont été menées pour évaluer la séroprévalence des *Brucella* spp. ou bien pour identifier génétiquement la bactérie [2] [17] [24] [37].

L'objectif de cette étude est pour (i) déterminer la séroprévalence des anticorps anti-*Brucella* spp. chez trois espèces (bovine, ovine et caprine) dans la région de Tébessa, par l'utilisation de test de Rose Bengale comme test de dépistage ; et (ii) d'identifier une association éventuelle entre la séropositivité et certains facteurs de risque.

## Partie bibliographique

### 1. Historique

La brucellose a été caractérisée comme entité nosologique, au XIX<sup>e</sup> siècle, par des médecins militaires anglaises installées sur l'île de Malte [30]. Ainsi, la première description clinique fiable de la brucellose est attribuée à Allen Jeffrey Marston en 1859 [29] [30] et l'agent causal (nommé initialement *Micrococcus melitensis*) de cette maladie est isolé en 1886 par David Bruce, à partir de rates de militaires décédés de cette maladie à Malte [6].

En 1897 Almroth Wright décrit le test diagnostique par séroagglutination en tube [50]. Le rôle de la chèvre comme réservoir de l'agent de la brucellose sur l'île de Malte est décrit en 1905 par Thémistocle Zammit, bactériologiste maltais [51].

Parallèlement, Bernard Bang, vétérinaire danois, isole en 1895 chez des bovins présentant des avortements à répétition une nouvelle bactérie, qu'il nomme *Bacillus abortus* [30].

La relation entre *Micrococcus melitensis* et *B. abortus* n'est établie qu'en 1917 par Alice Evans, bactériologiste américain, qui propose la création du genre *Brucella* (et des espèces *Brucella melitensis* *Brucella abortus*) en l'honneur des travaux de Bruce [27] [13]. Quatre autres espèces sont ensuite caractérisées: *B. suis* en 1914 isolée par Traum chez des truies présentant des avortements ; *B. canis* reconnue en 1966 par Carmichael comme agent d'avortements chez la chienne de race Beagle ; *B. ovis* isolée de moutons en 1953 ; et *B. neotomae* espèce isolé de rats du désert (*N. lepida*) dans l'Utah (États-Unis) en 1957. En fait, de nombreux mammifères terrestres constituent un réservoir potentiel pour les bactéries du genre *Brucella* [30] [13] [32].

Plus récemment, en 1994, un cas d'avortement chez un dauphin en captivité lié à une infection par des *Brucella* différentes des espèces précédemment caractérisées est rapporté en Californie (États-Unis) [14]. D'autres souches semblables sont ensuite isolées chez des dauphins, mais également chez d'autres mammifères marins, tel que des phoques ou des marsouins [5]. Cette découverte a relancé l'intérêt médical pour ces bactéries, notamment depuis la description de cas probables d'infections humaines liées à ces nouvelles *Brucella* [43].

### 2. Étiologie

#### 2.1. Classification

Les *Brucella spp.* appartiennent au groupe alpha des *Proteo-bacteria* [35]. Et à la famille des *Rhizobiaceae* [53]. Les espèces bactériennes les plus proches sur le plan



## Partie bibliographique

phylogénique sont notamment les *Bartonella*, autres bactéries responsables de zoonoses ; des bactéries de l'environnement rarement isolées chez l'homme (*Ochrobactrum anthropi*, *Afiplia*, *Bosea*), et des bactéries pathogènes ou symbiotes de plantes (*Rhizobium*, *Agrobacterium*). Sur le plan taxonomique, le genre *Brucella* a été anciennement divisé en dix espèces, elles-mêmes séparées en biovars, en fonction notamment d'une relative spécificité de l'hôte animal naturel. En accord avec cette classification ancienne, des noms d'espèces ont été proposés pour différencier les souches isolées de mammifères marins [5].

*B. maris* regroupant l'ensemble des souches isolées de mammifères marins [20]. Puis plus récemment *B. cetaceae* (espèces isolées de dauphins) et *B. pinnipediae* espèces isolées de pinnipèdes, notamment phoques, otaries et morses [9].

Les études fondées sur l'hybridation ADN/ADN ou sur la séquence du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S ont montré que le genre *Brucella* est en fait mono spécifique. Les anciennes espèces infectant les mammifères terrestres, ainsi que celles décrites récemment chez des mammifères marins, appartiennent à une espèce unique dont le nom proposé est *B. melitensis* [5].

### 2.2. Principaux caractères bactériologiques

Les *Brucella* sont de petits coccobacilles, à Gram négatif, mesurant 0,6–1,5 µm de long et 0,5–0,7 µm de diamètre [15]. Leur croissance nécessite l'utilisation de milieux enrichis au sang, et certaines souches se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10% de CO<sub>2</sub>. La température de croissance optimale est 34°C. L'isolement des *Brucella* en primo-culture nécessite classiquement des temps d'incubation prolongés, de deux à trois semaines en moyenne et parfois plus. L'utilisation de systèmes automatisés pour les hémocultures permet de réduire ce temps à moins de cinq jours [52].

Les *Brucella* sont des bactéries aérobies strictes, catalase positive, oxydase habituellement positive [15]. La plupart des souches isolées en pathologie humaine produisent une uréase d'action rapide et intense. Du fait d'une faible réactivité biochimique, l'identification de ces bactéries par les méthodes phénotypiques usuelles est difficile [3].

Le lipopolysaccharide (LPS) est l'antigène le plus immunogène [16] [33]. Ce LPS est caractérisé par une variation de phase, à l'origine des phénotypes lisse (S-LPS) et rugueux (R-LPS). Le S-LPS est retrouvé à l'état sauvage chez la plupart des espèces et biovars. *B. canis* et *B. ovis* possèdent naturellement un R-LPS.

## Partie bibliographique

Les chaînes latérales polysaccharidiques (antigène "O") du S-LPS sont constituées d'un homopolymère comprenant environ 100 résidus de 4-formamido-4,6-didéoxy-D mannopyranosyl, support essentiel des réactions croisées entre *Brucella* spp. et *Yersinia enterocolitica* O : 9, ou plus accessoirement *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O : 1, *Escherichia hermannii*, *E. coli*: 157, et *Salmonella*: 30. L'immunogénicité des protéines membranaires, périplasmiques ou cytoplasmiques est bien inférieure à celle du LPS [44].

Certaines protéines sont responsables de réactions sérologiques croisées entre *Brucella* spp. et d'autres membres de la famille des *Rhizobiales* [9]. Le génome des *Brucella* est original car constitué de deux réplicons circulaires, avec un ratio G+C de 58–59 %. Le génome de la souche *B. melitensis* 16M, comprend deux chromosomes circulaires de 1,15 et 2,1 Mb [11]. Cette organisation est retrouvée chez la plupart des espèces, sauf pour *B. suis* biovars 3 qui ne comprend qu'un seul chromosome circulaire de 3,2 Mb [21]. Les séquences complètes des génomes de *B. melitensis* souche 16M et *B. suis* souche 1330 sont disponibles depuis 2001 [39], et celui de *B. abortus* est en cours de détermination. Les *Brucella* ne possèdent pas de plasmide.

### 3. La brucellose animale : Pathogénique et Clinique.

#### 3.1. Brucellose bovine

##### 3.1.1. Pathogénie

La pénétration de la bactérie se fait généralement via la muqueuse orale, du nasopharynx, des conjonctives, par voie génitale, et parfois par des lésions cutanées. Il se produit alors une réaction inflammatoire aigüe de la sous-muqueuse avec infiltration par des leucocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes), puis il y a extension par voie lymphatique aux nœuds lymphatiques locaux [23]. En fonction de l'état immunitaire de l'hôte, de la virulence et de la quantité des bactéries, il se produit :

➤ Soit une dissémination dans l'organisme et une phase septicémique aigüe puis la localisation dans certains 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 aigüe : avortement, orchite...

➤ Soit l'arrêt de l'infection par les défenses immunitaires du sujet. Il existe donc plusieurs formes cliniques.

## Partie bibliographique

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 lors 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 ou une arthrite chronique peuvent se développer. La réponse immunitaire des animaux est à la fois humorale et à médiation cellulaire.

Le LPS étant un antigène «T-indépendant», ce qui n'est pas le cas de la majorité des protéines, les anticorps dirigés contre lui n'ont pas besoin d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire pour être synthétisés. La réponse humorale est identique chez toutes les espèces animales infectées. Elle est dirigée principalement contre l'antigène majeur de *B. abortus*, à savoir la chaîne «O» de son LPS. Ces anticorps anti-LPS induit une lyse bactérienne, par la voie classique du complément ainsi que par opsono-phagocytose. Une réponse se développe aussi contre des protéines de la membrane extérieure, du périplasma, et du cytoplasme, mais plus tardivement. La réponse cellulaire est-elle dirigée exclusivement contre des protéines bactériennes.

Elle se déroule en quatre étapes : les macrophages infectés produisent des cytokines ; puis les lymphocytes précurseurs se différencient en lymphocytes de type 1 ; ces lymphocytes 1 se divisent en lymphocytes «helpers» CD4+ et cytotoxiques CD8+ ; et enfin l'interféron gamma produit par ces deux lymphocytes induit la destruction de la bactérie [34].

### 3.1.2. Clinique bovine

L'incubation est très variable l'avortement peut avoir lieu quelques semaines à plusieurs mois après l'infection, Les symptômes sont inconstants,

La maladie est généralement asymptomatique chez les femelles non gravides, les symptômes les plus courants concernant l'appareil génital. En effet le premier signe chez la femelle est l'avortement, sans dystocie, possible à n'importe quel stade de la gestation, mais le plus souvent vers 6-7 mois quand la génisse a été infectée à la saillie ou au tout début de la gestation. L'avorton est, toujours mort quand il a moins de six mois, parfois vivant quand il est plus âgé, mais il meurt généralement peu de temps après.

Parfois, si la génisse a été infectée pendant la deuxième moitié de la gestation, la mise basse n'est prématurée que de quelques jours, mais les lésions d'hypoxie sont souvent trop graves pour permettre la survie du jeune. La rétention placentaire est fréquente après l'avortement. Des lésions d'endométrite peuvent ensuite être responsables d'infécondité

## *Partie bibliographique*

temporaire. Le pourcentage d'avortement dans un troupeau n'ayant jamais été au contact de la bactérie est de 50 à 70%.

Chez le mâle, des orchites ou orchis-épididymites (uni- ou bilatérales) sont observées entraînant une stérilité fréquente

Les symptômes extra génitaux sont rares chez les bovins, associés à une évolution chronique. Ce sont alors des hygromas, uni- ou bilatéraux, et généralement localisés au carpe ou des arthrites. Ces symptômes sont plus fréquents en régions tropicales [5].

### **3.2. Brucellose ovine et caprine**

#### **3.2.1. Pathogénie**

L'incubation dure 14 à 180 jours chez les petits ruminants, au cours desquels se produit la colonisation locale et régionale par les bactéries. Chez les femelles en gestation, les bactéries se multiplient alors dans le cytoplasme des trophoblastes du chorion (dans le réticulum endoplasmique granuleux).

Les étapes de l'infection sont identiques à celles de la brucellose bovine. Cependant, les ovins se débarrassent plus facilement et souvent des *Brucella* que les bovins : il se produit souvent une autostérilisation 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.

#### **3.2.2. Clinique ovin et caprin**

Il n'y a aucune atteinte de l'état général lors d'infection aiguë. Les formes inapparentes sont plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins. Une forme chronique asymptomatique existe chez les femelles, avec une colonisation du système lymphoréticulaire. Après une première réponse immunitaire, les symptômes et les anticorps disparaissent alors et les animaux restent porteurs asymptomatiques.

Les symptômes génitaux sont les plus fréquents, notamment l'avortement, qui a lieu surtout chez les femelles primipares, pendant le dernier tiers de gestation (40 à 90% des femelles). Dans 10-15% des cas, il se produit plusieurs avortements chez la même femelle.

En cas de mise bas à terme, la mortalité périnatale est très forte dans les 24 heures suivant la mise basse. Si le petit survit, il peut devenir porteur chronique. La rétention placentaire est moins fréquente que chez les bovins, mais une stérilité temporaire est couramment observée chez les femelles infectées.

L'infection des mâles est généralement inapparente, avec parfois des orchites ou épididymites. Des mammites se déclarent parfois, et peuvent toucher beaucoup d'animaux, au

## Partie bibliographique

stade clinique, avec des nodules inflammatoires et du lait grumeleux les arthrites et bursites sont rares chez les petits ruminants [5].

### 4. Epidémiologie de la brucellose

**Les espèces animales affectées** par *B. abortus* sont surtout les bovins, mais aussi d'autres ruminants domestiques (buffles d'Asie, yaks, dromadaires, zébus, moutons et chèvres) et sauvages (buffles d'Afrique, gnous, bison d'Amérique...), et plus rarement les suidés, équidés, carnivores, et rongeurs. Un cheval infecté par *B. abortus* présente une infection chronique des bourses séreuses du cou et du garrot. Les ovins, caprins et porcins sont peu sensibles à *B. abortus*. L'infection des bovins par *B. melitensis* provoque une maladie identique.

**Les sources de contagion** sont tous les bovins infectés, malades ou apparemment sains (puisqu'ils peuvent rester porteurs à vie). Mais la contagiosité est variable et souvent intermittente : elle est maximale durant la période de reproduction, la phase la plus dangereuse étant la vidange de l'utérus gravide. Tout animal sensible infecté peut aussi être source de contamination.

**Les matières virulentes** les plus importantes sont le contenu de l'utérus gravide, expulsé pendant l'avortement ou la mise bas, avec une excrétion qui débute dès la liquéfaction du bouchon muqueux obturant le col et qui disparaît généralement deux ou trois semaines après l'expulsion du fœtus. Les sécrétions vaginales et l'urine peuvent également être virulentes.

Enfin il existe une excrétion transitoire (quelques jours après la mise bas) et discrète de bactéries dans le lait et le colostrum (surtout importante après un avortement). Chez le mâle, il peut y avoir une excrétion de *Brucella* dans le sperme.

Des bactéries sont parfois présentes dans les produits de suppuration (hygromas), dans les fèces (jeunes nourris avec du lait infecté), et dans les viscères infectés (contamination humaine).

Les *Brucella* sont sensibles à la pasteurisation, mais elles peuvent résister plusieurs semaines à plusieurs mois dans les matières virulentes et le milieu extérieur (pâturages, points d'eau, lisier...) :

- Plus de huit mois dans un avorton à l'ombre ou dans des fosses à purin
- Deux ou trois mois dans un sol humide
- Trois ou quatre mois dans les fèces

## Partie bibliographique

Il existe de nombreux **modes de transmission** de la maladie entre animaux. La transmission verticale à lieu in utero ou lors du passage dans la filière pelvienne. Les jeunes se débarrassent généralement de l'infection, sauf dans 5-10 % des cas (infection persistante sans réaction sérologique décelable). Les signes cliniques n'apparaîtront que chez les jeunes femelles infectées, lors de leur première gestation ou plus tard.

Quant à la transmission horizontale, elle peut être directe par contacts lors de cohabitation, ou par ingestion (d'eau, de nourriture, de colostrum ou de lait contaminés) ou encore par voie vénérienne, lorsque les taureaux excrètent des bactéries dans leur sperme. Elle peut également avoir lieu de manière indirecte par l'intermédiaire de locaux, pâturages, aliments, eaux et matériels, ou par léchage de placentas, avortons ou appareils génitaux.

La pénétration de la bactérie se fait donc par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive ou vénérienne.

Divers **facteurs de sensibilité et réceptivité** ont été identifiés. En effet, la gestation est un important facteur de sensibilité, et lors de contamination hors gestation, on observe une infection transitoire et guérissant spontanément dans plus de 50 % des cas. De plus, il semble que l'âge le plus sensible soit après le développement complet des organes génitaux : les bovins pubères restent généralement infectés toute leur vie, tandis que les jeunes guérissent souvent de leur infection [5].

## 5. Importance Socio-économique

### 5.1. Impacts sociaux

Depuis 1955, les Etats-Unis ont produit des bombes contenant *B. suis* pour l'US Air Force [5]. Les brucelles sont ainsi classées parmi les pathogènes potentiels du bioterrorisme [38]. Trois nouveaux défis ont relancé récemment l'intérêt médical vétérinaire pour cette maladie : son expansion dans la faune sauvage, l'inefficacité des certains vaccins disponibles et la découverte d'un nouveau réservoir chez les mammifères marins dont l'impact est quasi inconnu [5].

L'incidence mondiale de la maladie est estimée à 500.000 cas/an (soit une incidence humaine annuelle, en 2001, de 4 à 5.105 cas humains [49].

Entre 2003 et 2004, des cas humains ont été recensés en Afrique notamment au Cameroun, en Ethiopie, au Kenya, au Nigéria, en Tanzanie, en Ouganda, au Burkina Faso, au Mali, au Congo, en Erythrée, en Namibie, au Swaziland [41].

## Partie bibliographique

Le danger de cette maladie réside dans la consommation et la manipulation des produits infectés, la difficulté d'affirmer la guérison définitive [26] la présence de symptômes peu spécifiques invalidant l'Homme et portant à confusion avec le paludisme.

### 5.2. Impacts économiques

Les pertes économiques sont estimées à près de 600.106 dollars en Amérique Latine (Godefroid) [19]. En Afrique de l'Ouest, le troupeau laitier est affecté à 30%, et le rendement économique est réduit de 5,8% [4]. 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 [28]. Les pertes sont surtout liées aux multiples avortements, l'infertilité des vaches, la baisse de production laitière et la contamination du lait. L'importance économique que revêt cette zoonose oblige certains pays à recourir aux programmes d'abattage-indemnisation et de vaccination à coûts élevés.

## 6. MÉTHODES DIAGNOSTIQUES

Les signes majeurs de suspicion sont l'avortement (quel que soit le stade de gestation) isolé ou en série et chez le male l'orchite et (ou) l'épididymite [18].

### 6.1. Diagnostic direct (OIE 2000)

#### 6.1.1. Diagnostic bactériologique

Il est réalisé par examen microscopique avec colorations, ou par culture en milieux sélectifs, permettant une identification de genre et espèce. Les échantillons les plus intéressants pour sa réalisation sont : le placenta, des excréments vaginales, ou du poumon, foie et contenu gastrique du fœtus.

**Principe** : Les prélèvements doivent être fixés avec la chaleur ou l'éthanol avant d'être colorés par les méthodes de Stamp, Coster, ou Machiavels. L'observation d'agrégats intracellulaires permet alors d'émettre une suspicion de brucellose. Mais la morphologie de la bactérie est la même que celle de *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus* et des confusions peuvent avoir lieu. Ces bactéries sont résistantes à la décoloration par les acides faibles et apparaissent donc colorées en rouge sur fond bleu par la coloration de Stamp. Un isolement et une mise en culture de *Brucella* peuvent être réalisés sur milieux solides classiques, qui limitent la formation de mutants «rough» et le développement de contaminants. Cependant, il est recommandé d'utiliser des milieux liquides pour les échantillons volumineux ou pour pratiquer un enrichissement. Les milieux les plus utilisés sont le «Trypticase-Soy Agar» ou le «Sérum Dextrose Agar». La culture sur milieu sélectif permet d'éviter la croissance d'autres espèces de bactéries. Le plus utilisé est le milieu de Farrell, qui est préparé par addition de six

## Partie bibliographique

antibiotiques a un milieu de culture classique. Un enrichissement peut être pratique lorsque la culture est réalisée a partir de prélèvements pauvres en bactéries, comme le lait ou le colostrum. Au bout de trois ou quatre jours d'incubation, des colonies rondes de 1-2 mm de diamètre apparaîtront, bombées, transparentes, de couleur miel, lisses, luisantes, et a contours réguliers. Ces colonies deviennent avec le temps plus gros et plus foncées. L'identification d'espèce et le bio typage peuvent être réalisés grâce à des techniques de phage-lyse et sur culture bactérienne, à partir de critères biochimiques et sérologiques.

### 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.

### Inconvénient

- La spécificité de l'identification est rendue difficile du fait de conditions de croissance très voisines pour *Bordetella bronchiseptica* et *Brucella* [40].
- Méthode longue de quelques jours a quelques semaines.

### 6.1.2. Diagnostic par PCR (Polymérase Chain Réaction)

Une technique de PCR mise au point permet également la détection et l'identification de *Brucella*, et plusieurs techniques moléculaires, comme la PCR, la RFLP, et le Southern Blot permettent de différencier les espèces de *Brucella* et certains de leurs biovars.

Plusieurs études récentes ont montré l'intérêt de la PCR. En effet, cette technique semble être simple, très sensible, spécifique et relativement bon marché, ce qui permet d'en faire un test de routine. La PCR permet d'établir le diagnostic de brucellose aigue plus précocement que lors de l'utilisation des tests conventionnels et est capable de détecter chez l'homme les patients dont les traitements ont échoué. On peut ainsi détecter des rechutes éventuelles alors que la mise en culture ou les tests sérologiques sont inefficaces.

La PCR semble avoir un grand intérêt pour le suivi post-traitement [48].

## 6.2. Diagnostic indirect (OIE 2000)

### 6.2.1.

### Diagnostic sérologique

Le diagnostic et le dépistage sérologiques sont très utilisés, sur sérum ou lait. Les anticorps détectés sont ceux dirigés contre les épitopes du LPS, ce qui entraîne des problèmes de parenté entre *B. abortus* et d'autres bactéries. En effet, lorsque la prévalence est faible, la valeur prédictive de ces tests diminue car beaucoup de faux positifs apparaissent, notamment à cause d'une réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica* [25].



## Partie bibliographique

De plus, l'intensité et la durée de la réponse humorale sont très variables en fonction des individus et des doses infectieuses, avec aussi des variations qualitatives.

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux définis par l'Office International des Epizooties, et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits. Ainsi, pour la production d'antigènes de diagnostic, seules les souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *B. abortus* peuvent être utilisées. Ces souches doivent être complètement «smooth» et ne doivent pas agglutiner en milieu salin. Elles doivent provenir de cultures pures et se montrer conformes aux caractéristiques de *B. abortus* biovar1 d'indépendance vis-à-vis du CO<sub>2</sub>.

### 6.2.2.

### Epreuve à l'antigène tamponné

#### (EAT) = Test Rose Bengale

**Principe** : l'antigène utilisé est une suspension de *B. abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), diluée en tampon acide puis colorée par le Rose Bengale. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, à l'obscurité, et ne doit surtout pas être congelé. Selon les normes de OIE, l'antigène pour le test au Rose Bengale est préparé en récupérant par centrifugation des souches 99 de *B. abortus* tuées, et en les remettant en suspension dans du phénol salin. Pour chaque 35 ml de cette suspension, on rajoute 1 ml de Rose Bengale à 1 % dans de l'eau distillée ; et le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré et centrifugé pour recueillir les cellules colorées, remises en suspension au taux de 1g de cellules pour 7mL de diluant (hydroxyde sodique, phénol, acide lactique). La couleur de cette suspension doit être rose intense, et le surnageant doit être sans colorant. La suspension est de nouveau filtrée à plusieurs reprises, puis conservée à l'obscurité et au frais.

L'antigène et le sérum à analyser sont mélangés à volumes égaux, et après 4 minutes de contact, la présence d'anticorps se traduit par la formation d'agglutinats visibles à l'œil nu. S'il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le mélange reste homogène.

Le mode opératoire est le suivant :

- Placer l'antigène et les sérums à température ambiante (18-23°C), 30 à 60 minutes avant le début du test
- Sur une plaque, déposer 30 µL de chacun des sérums à tester
- Agiter doucement le flacon d'antigène
- Déposer 30 µL d'antigène coloré à côté de chacun des sérums
- Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum
- Agiter la plaque pendant quatre minutes exactement et lire immédiatement

## Partie bibliographique

Il est préférable d'avoir un témoin positif (sérum infecté) et un témoin négatif.

Pour l'interprétation, une absence d'agglutination signifie qu'il n'y a pas d'anticorps dans le sérum, tandis que l'existence d'une agglutination, aussi minime soit-elle, signale la présence d'anticorps anti-*Brucella*.

### Avantages

➤ Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*B. melitensis*, *suis*, *abortus*) sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 / 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 à au moins trois mois d'intervalle.

### 6.2.3. Epreuve de l'anneau sur le lait = Ring Test

#### Principe

C'est une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait dirigés contre le LPS bactérien avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Les agglutinats colorés sont adsorbés sur les globules gras et se regroupent en surface dans l'anneau de crème.

L'antigène utilisé est une suspension de *B. abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), et colorée à l'hématoxyline. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, sans être congelé.

Selon les normes de l'OIE, la production de cet antigène se fait à partir d'une suspension de souches 99 de *B. abortus* tuées, centrifugée puis remise en suspension dans une solution d'hématoxyline colorant. Après avoir reposé 30 minutes à température ambiante, le mélange violet est additionné de 940 ml de sulfate d'ammonium aluminium à 10%. La solution doit être gardée à température ambiante pendant 45-90 jours.

## *Partie bibliographique*

Avant utilisation, la solution est mélangée et filtrée. La solution finale a une concentration d'un gramme de cellules pour 30 ml de colorant et est conservée 48h à température ambiante.

Elle est ensuite ré-centrifugée et lavée trois fois, pour avoir un pH de 3.0. Les bactéries sont finalement remises en suspension au taux de 1 gramme pour 27 ml de diluant (phénol, acide citrique, hydrogène-phosphate di sodique), et filtrées une dernière fois.

Le mode opératoire est le suivant :

➤ Placer l'antigène une heure à température ambiante (18-23°C) avant le début des tests

➤ Agiter avec soin l'antigène au moment de l'emploi

➤ Homogénéisera les laits à tester par agitation (après les avoir conservés au moins 24h à +4°C), puis les répartir en tubes de 1 ml. La taille de la colonne de lait dans le tube doit être d'au moins 25 mm. Les échantillons de lait ne doivent pas avoir été congelés, chauffés ou violemment remués.

➤ Ajouter 50 µL d'antigène

➤ Mélanger soigneusement

➤ Incuber une heure à l'étuve à 37°C, puis 18 à 20h entre +2 et +8°C

➤ Effectuer la lecture (une incubation de toute une nuit à 4°C augmente la sensibilité du test et permet une lecture plus facile)

Il est préférable d'avoir comme témoins un lait positif et un lait négatif.

Pour l'interprétation, si l'anneau de crème est moins coloré que le lait sous-jacent, cela signifie qu'il n'y a pas d'anticorps, tandis que si l'anneau de crème est plus ou autant coloré que le lait sous-jacent, des anticorps doivent être présents. Une réaction fortement positive est indiquée par la formation d'un anneau bleu/violet au-dessus d'une colonne de lait, mais tout dépôt bleu à l'interface entre le lait et la crème doit être considéré comme positif car il peut être révélateur, surtout dans les gros troupeaux. Un lait individuel est considéré comme positif à partir de la dilution au 1/8.

### **Avantage**

➤ Ce test est très sensible.

### **Inconvénients**

➤ Difficulté voire impossibilité de prélever du lait.

➤ Nécessite d'avoir un lait positif et un lait négatif.

➤ Test non adapté. fait pour les animaux de rente.

## Partie bibliographique

### 6.2.4. Serio-agglutination de Wright

#### Principe

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.

#### 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.

### 6.2.5. Fixation du Complément

#### Principe

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 a chaud (37°C pendant 30 minutes) ou a froid (4°C pendant 14-18 heures), avec des caractéristiques légèrement différentes, a adapter à la qualité des sérums testes.

#### Avantages

- Sa forte spécificité et sensibilité.

#### Inconvénients

- Test difficile à mettre en œuvre.

### 6.2.6. ELISA (Enzyme Liked Immune Sorbent Assay)

#### Principe

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 a tester sont dilues 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. Apres lavage, une immunoglobuline anti-anticorps couplée a une enzyme est mise à incuber, et ce conjugue se fixe sur l'immun complexe. Apres un deuxième lavage, le substrat de l'enzyme (TMB) est ajoute dans les puits. Si l'immuno-

## *Partie bibliographique*

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.

## **6.2.7. Fluorescence Polarisation Assay**

### **Principe**

Le mécanisme de ce test est basé sur la rotation aléatoire des molécules en solution.

La taille 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  $68,5^\circ$  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.

### **Avantages**

➤ 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.

### **Inconvénients**

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

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 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 d'interprétation quantitative. Les performances de l'ELISA et du test en lumière polarisée sont quand elles sont comparables ou meilleures que celles du test de fixation du complément, et comme ils sont plus simple techniquement, ils devraient être utilisés en priorité.

### **6.2.8. Intradermo-réaction à la brucellose**

#### **Principe**

Elle est utilisable dans les situations où des réactions sérologiques positives sont soupçonnées d'être faussement positives, en complément de considérations épidémiologiques sur l'absence de risque d'infection du cheptel.

Le dépistage allergique consiste en la mise en évidence de l'immunité cellulaire. C'est une intradermo-réaction à la brucellose. La réaction est considérée positive lorsque l'épaississement du pli cutané, constaté 72h après l'injection, est supérieur à deux millimètres.

Cette réaction est spécifique mais peu sensible (beaucoup de faux négatifs). C'est une réaction d'hypersensibilité retardée suite à l'injection dans le derme de *Brucella*. Elle est peu utilisée en routine, avec une bonne spécificité mais une sensibilité moyenne.

#### **Avantage**

- Bon test complémentaire des approches sérologiques.

#### **Inconvénients**

- Cette méthode n'est plus utilisable sur les animaux vaccinés.
- C'est un moyen de dépistage des troupeaux infectés (et non des animaux infectés), car il y a beaucoup de faux négatifs.

## Partie bibliographique

**Tableau 1:** Comparaison des différentes méthodes de diagnostic de la Brucellose [34].

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

## **7. Prophylaxie**

### **7.1. Prophylaxie médicale**

Il existe actuellement plusieurs vaccins pour les bovins mais aucun pour les espèces sauvages.

### **7.2. Prophylaxie sanitaire**

Aucune mesure de police sanitaire n'est définie réglementairement pour la brucellose de la faune sauvage. La gestion de la prévention et des suspicions de brucellose dans la faune sauvage pourrait se faire sur la base de recommandations établies à partir de celles faites aux troupeaux de bovins, d'ovins et de caprins :

➤ la déclaration de la maladie est obligatoire. C'est une maladie professionnelle, on doit donc respecter impérativement les règles d'hygiène et de sécurité et notamment pour les personnels de laboratoire ou les professionnels au contact de produits biologiques potentiellement infectés (produits lactés, annexes embryonnaires, sang, litières etc.)

➤ prendre des précautions à titre individuel port de gants et port de masques (être prudent avec la formation d'aérosols), hygiène de l'alimentation.

➤ en cas d'avortement, isolement de la femelle, désinfection des locaux et destruction des annexes embryonnaires et du fœtus [34].



## **1. Matériel et Méthodes**

### **Objectif**

Une étude transversale a été conduite dans la région de Tébessa, pour (i) estimer la séroprévalence des anticorps anti- *Brucella* Spp. chez trois espèces (Bovine, Ovine et Caprine) considérées comme les sources potentielles de la contamination humaine par cette bactérie et (ii) d'évaluer l'association entre la séropositivité et certains facteurs de risque putatifs (espèce, sexe, catégorie d'âge et survenue des avortements en dernière gestation)

### **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 km<sup>2</sup>, c'est une zone qui regroupe un vaste étendu steppique de notre pays en position de transit entre le Nord et le Sud, son altitude varie entre -1 et 1713m. Elle est limitée au Nord par la Wilaya de Souk-Ahras, au Sud par la Wilaya d'El Oued, à l'Ouest par les Wilayet d'Oum El-bouaghi et Khenchela et à l'Est par la république tunisienne sur une distance de 300 km de frontière. Sur le plan administratif, la wilaya compte 28 communes regroupées en 12 Daïras (**Figure1**).

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

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

➤ La zone Subhumide (400 à 500 mm/an) très peu étendu, il couvre que quelques ilots limités aux sommets de quelque reliefs (une superficie de 135000 ha, soit 10% de la superficie totale).

➤ La zone Semi-aride (300 à 400 mm/an) représenté par les sous étages frais et froid, il couvre toute la partie Nord de la wilaya avec une superficie de 229450 ha.

➤ La zone Subaride (200 à 300 mm/an) couvre les plateaux steppiques d'Oum-Ali, Safsaf-El-Ouesra, Thlidjene et Bir El-Ater, occupe environ 50% de la superficie totale de la wilaya.

➤ la zone Aride ou saharien doux (-200 mm/an), commence et s'étend au-delà de l'Atlas saharien et couvre les plateaux de Negrine et Ferkane, soit une superficie de 202457 ha.

## 1.2. Échantillonnage et prélèvements sanguins

**1.2.1. Période d'étude :** La présente étude s'étale entre le mois de Septembre 2018 et Mai 2019.

### 1.2.2. La taille d'échantillon

La taille minimale d'échantillon a été calculée par l'utilisation de la formule suivante [46]

:  $n = \frac{1.96^2 P_{exp}(1-P_{exp})}{d^2}$  ; d'où  $P_{exp}$  (expected prevalence) : la prévalence attendue et

$d^2$  (desired absolute precision) : la précision requise ou la marge d'erreur. La taille d'échantillon requise calculée est 38 animales pour l'espèce bovine et de 86 animales pour les petits ruminants ; en utilisant une prévalence attendue de 2.5% et 5.68% respectivement [24] et une précision adéquate 0.05 [22].



**Figure 1:** Localisation géographique et organisation administrative de la wilaya de Tébessa

## Partie bibliographique

### 1.2.3. Animaux

Cette étude inclus 303 prélèvements provenant de 34 élevages privés, issus de 15 communes de la wilaya de Tébessa. Pour l'espèce ovine et caprine un échantillonnage aléatoire simple a été adopté au niveau de chaque troupeau pour sélectionner entre 5 à 25 animales ; l'échantillon étudié inclus 84 têtes caprines et 156 têtes ovines issues de 9 et 13 troupeaux respectivement. Pour l'espèce bovine, 63 têtes bovines échantillonnées dans 15 troupeaux par une procédure d'échantillonnage exhaustive au niveau de chaque troupeau.

### 1.2.4. Prélèvements sanguins

Des échantillons de sang (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 jetables et un porte aiguille, ou bien l'aide des seringues de 5cc pour d'autre échantillons.

Les sérums ont été extraits par centrifugation, ou bien après coagulation et décantation des prélèvements (**Figure 02**). Le sérum, obtenu a été aliquotes dans des tubes Eppendorf puis a été congelé à  $-20^{\circ}\text{C}$  avant d'être analyser. 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 (Espèce, sexe, présence ou absence d'avortement), ces informations sont enregistrées après avoir un questionnaire avec les éleveurs de cheptels.



**Figure 2:** Coagulation de sang et décantation des sérums (Photo personnelle).

### 1.3. Test sérologique

Tous les sérums obtenus ont été testé via un test de Rose Bengale (Rose Bengal Antigen for RAS test (Diagnostic sérologique de la Brucellose par l'Epreuve de l'Antigène Tamponné

## Partie bibliographique

(EAT) ou Rose Bengale – ID.vet Innovative Diagnostics)) ; la lecture a été faite au niveau du laboratoire de polyclinique Hammamet.

### 1.3.1. Description et principe

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

➤ C'est une méthode facile à mettre en œuvre et pouvant être appliquée à un grand nombre de sérums.

➤ La culture lisse de *Brucella* spp. colorée avec le colorant Rose Bengale est mélangée dans une suspension acide tamponnée et mélangée à un volume égal (gouttes) de sérum.

➤ Elle est basée sur une méthode d'agglutination sur lame en milieu acide (pH  $3,65 \pm 0,05$ ) qui permet de réduire l'apparition d'agglutination non spécifique.

➤ La coloration au Rose Bengale offre une meilleure lisibilité des agglutinats.

➤ Ce réactif est titré suivant la directive CE 64/432 de façon à donner un résultat positif avec sérum étalon OIEISS dilué au 1/45 et un résultat négatif avec une dilution au 1/55.

### 1.3.2. Réactif

Un flacon de 10 ml d'une suspension de *B. abortus* biovar 1 (souche 99 de weybridge) inactivée à la chaleur et au phénol, colorée au Rose Bengale et diluée en tampon acide (**Figure 03**).

### 1.3.3. Matériels nécessaire

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

### 1.3.4. Mode opératoire : (cf. Norme NF U 47-003)

1. 25 à 30 µl de sérum à tester et un volume équivalents de Rose Bengale sont mélangés rapidement sur une lame pour produire une zone d'un diamètre de 15 mm environ.

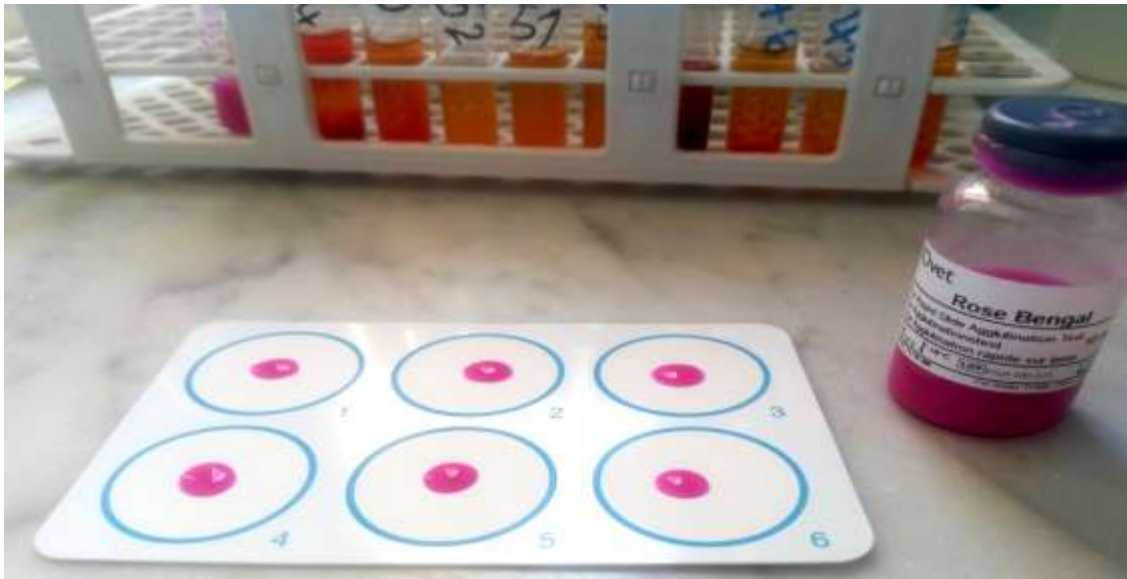
2. Après 4 min sous agitation lente, la présence d'anticorps spécifiques est révélée par la formation d'agglutinats visibles à l'œil nu. En absence d'anticorps spécifiques, le mélange garde un aspect homogène.

### 1.3.5. Précautions

1. Tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante avant utilisation. Les tests doivent être effectués à température ambiante ( $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

## Partie bibliographique

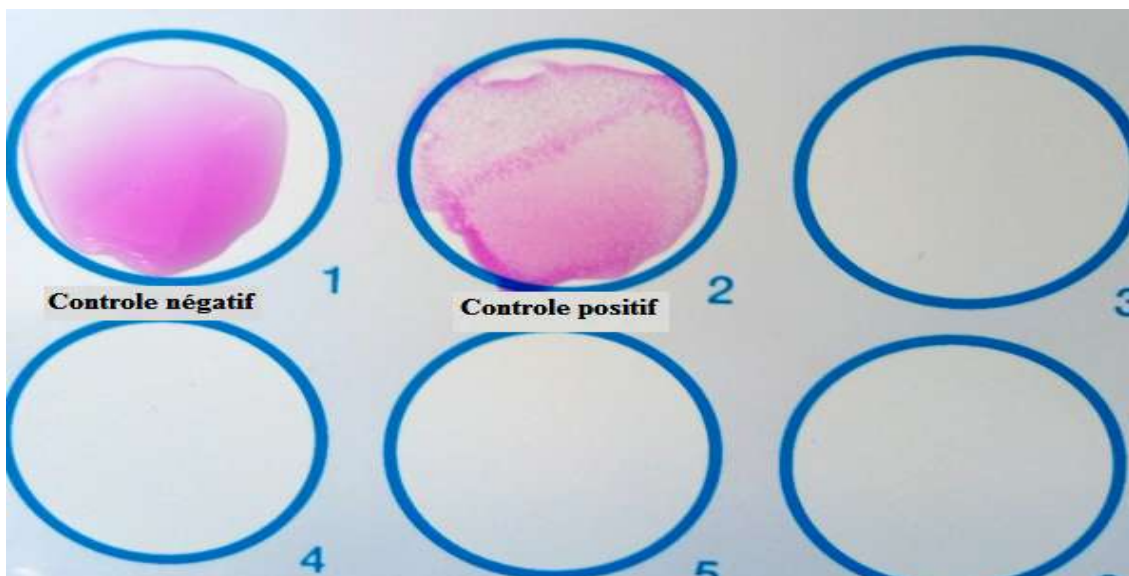
Il est important de bien agiter le flacon d'antigène coloré (par retournement du flacon) avant son utilisation afin de garantir l'homogénéisation de la suspension.



**Figure 3:** Réactif de Rose Bengale (Photo personnelle).

### 1.3.6. Interprétation des résultats

L'interprétation est faite indépendamment du type d'échantillon, l'échantillon testé est considéré positif si la suspension bactérienne est colorée et agglutinée (**Figure 4 et 5**).



**Figure 4:** Contrôle positif et négatif de Rose Bengale (Photo personnelle).

### 1.4. Récolte et analyse des données

Après avoir analysé les échantillons sérologiques, nous avons procédé au calcul des taux de séroprévalence instantanée individuelles de l'infection à *Brucella* spp. et de troupeaux infectés globales et pour chaque espèce étudiée.

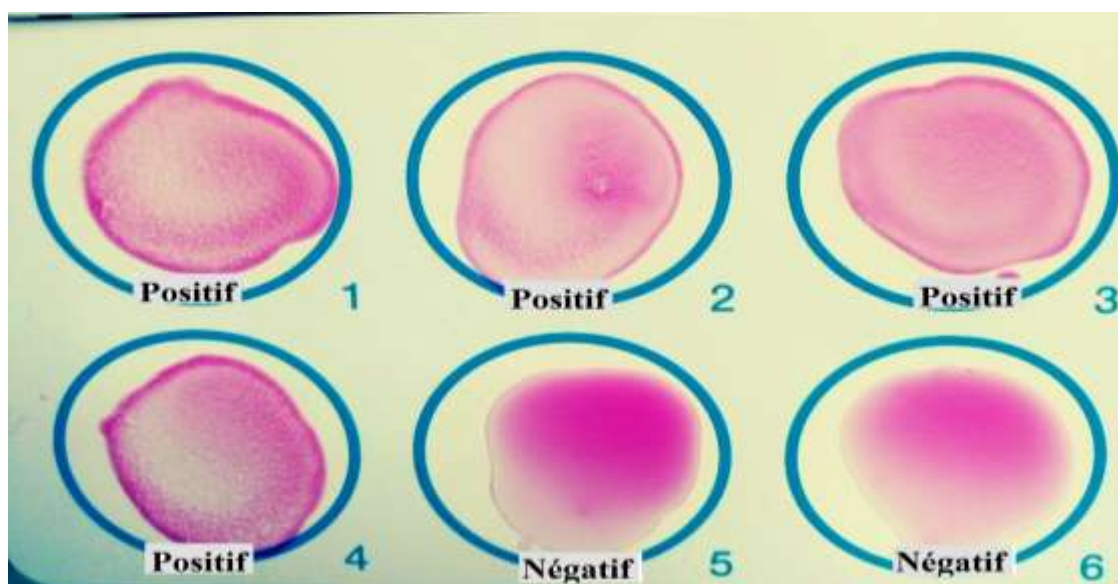


Figure 5: Cas positifs et négatifs de quelques échantillons (Photo personnelle).

#### 1.4.1. Calculs des taux de séroprévalence et des intervalles de confiance

Le taux de séroprévalence individuelle est calculé par l'utilisateur de la formule suivante :

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

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 calculées 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

Après la collection et l'organisation des données, nous avons utilisés le test de khi-deux (ou bien test de Fisher, si  $n < 5$ ) pour évaluer l'association statistique entre la séropositivité et quatre facteurs de risque putatifs. Les variables explicatives présentent une valeur de  $p \leq 0.05$ , ont soumis pour calculer l'Odds Ratio (OR) à intervalle de confiance de 95% (calculé en ligne [http://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/khi\\_carre\\_rr\\_odds\\_ratio\\_ic.html](http://www.aly-abbara.com/utilitaires/statistiques/khi_carre_rr_odds_ratio_ic.html)). Une

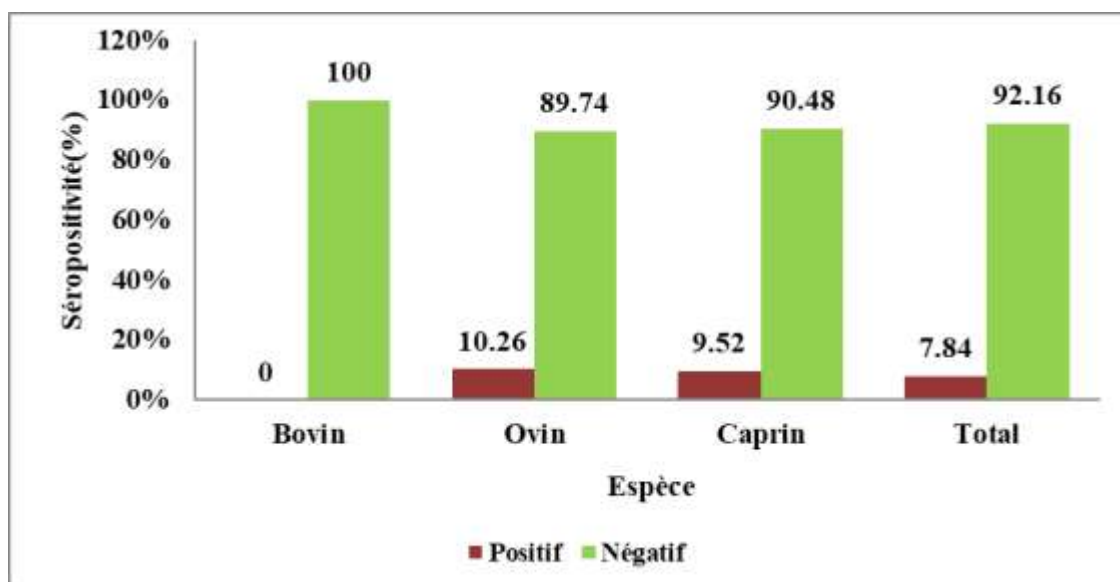
variable est considérée significativement associée avec la séropositivité, si Odds Ratio (OR) $>1$  et  $p \leq 0.05$ .

Les données ont été organisées dans des tableaux croisés et présentées graphiquement par l'utilisation du logiciel Microsoft Excel 2013, l'analyse statistique s'effectue à l'aide du logiciel SPSS Statistics version 22 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

## 2. Résultats

### 2.1. Taux de séroprévalence individuelle apparente

Les tests Rose Bengale, que nous avons réalisés sur 303 sérums, ont révélé 24 sérums positifs à la présence des anticorps anti-*Brucella* spp. soit un taux de séroprévalence individuelle apparente de 7.84% (IC 95% 5.38%–11.51%). La distribution des cas positifs sur les trois espèces est comme suite : espèce bovine 0% (0/63), ovine 10.26% (16/156) et caprine 9.52% (8/84) (**Figure 6**).

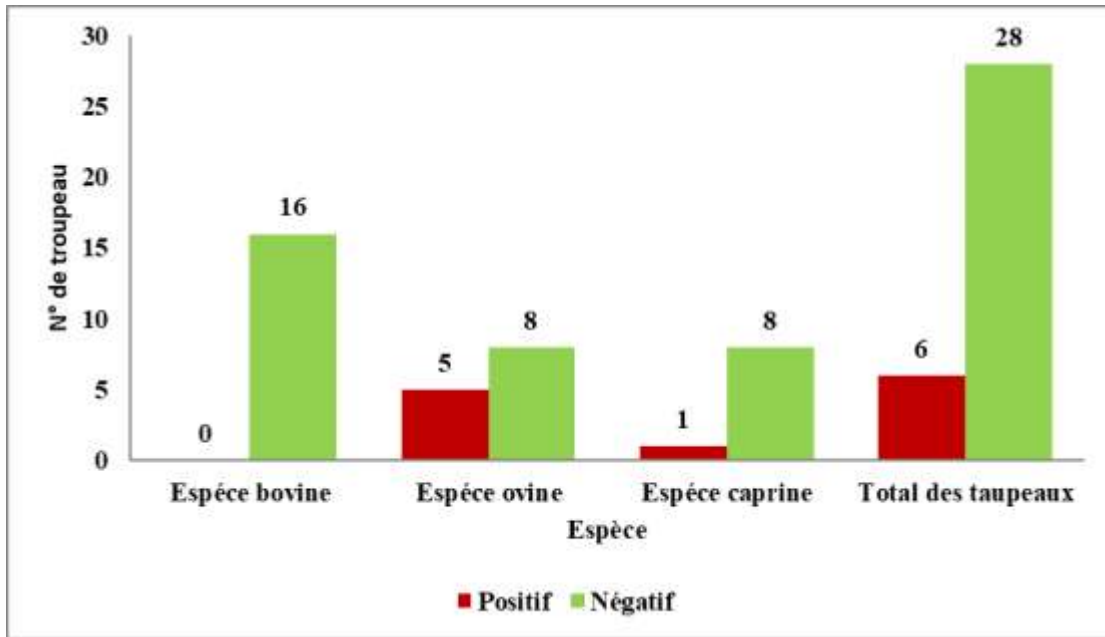


**Figure 6:** Taux de séropositivité individuelle totale et de chaque espèce.

### 2.2. Taux de troupeau infecté

L'analyse sérologique nous a permis de détecter un taux de troupeau infecté 0% (0/16) pour l'espèce bovine, 38.46% (5/13) pour l'espèce ovine et un taux de 11.11% (1/9) pour l'espèce caprine ; soit un taux de séropositivité global de 17.64% (6/34) (IC95% 8.1%–32.68%) (**Figure 7**).

Le tableau 02 présente : la distribution des animaux échantillonnés et séropositifs en fonction d'espèce et dans les différentes communes.



**Figure 7:** Nombre de troupeau infecté total et de chaque espèce

### 2.3. Les facteurs de risque associés à la présence des Anticorps anti-*Brucella* spp.

#### 2.3.1. Facteur d'espèce

Parmi les 303 animales étudiés, le taux de séropositivité le plus élevé a été signalé chez l'espèce ovine (10.26%), suivi par l'espèce caprine (9.52%) et pour l'espèce bovine les 63 sérums testés ont été séronégatifs (**Figure 6**).

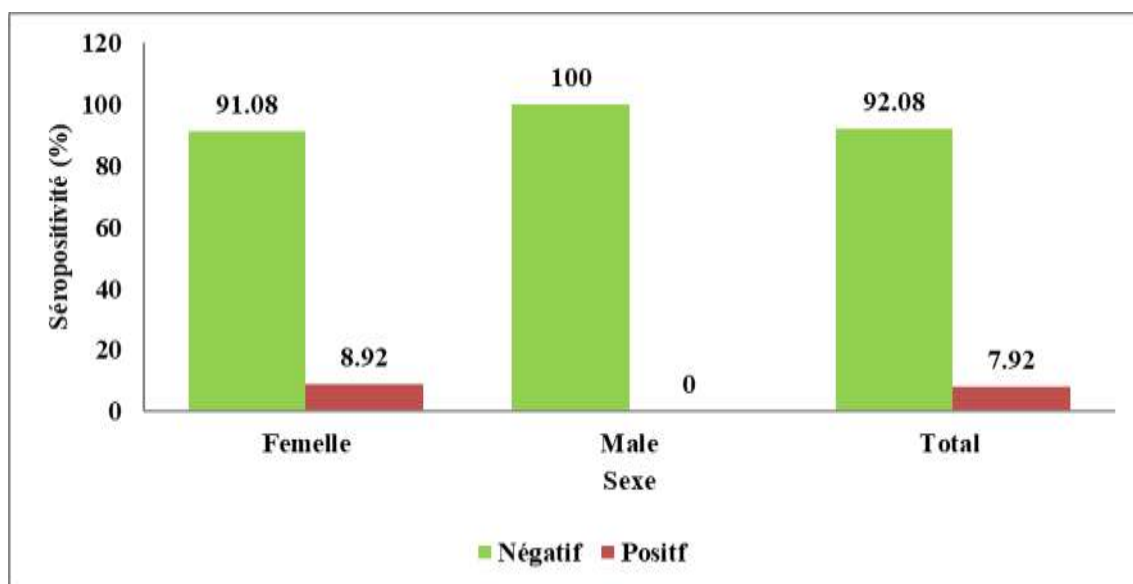
#### 2.3.2. Facteur de sexe

Parmi les 268 femelles testées au sein de trois espèces seules 24 cas ont été révélés séropositives, soit un taux de séropositivité de 8.95% ; tandis que aucun cas séropositif chez les mâles échantillonnés (**Figure 8**).



**Tableau 2 :** la distribution des animaux échantillonnés et séropositifs en fonction d'espèce et dans les différentes communes.

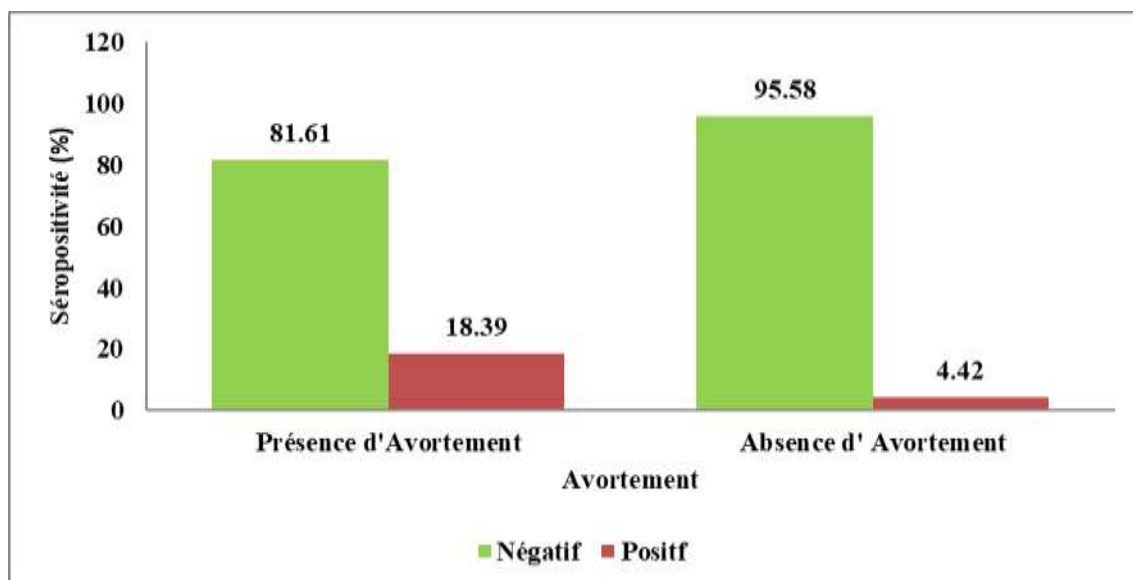
Commune	N° de troupeau	Espèce	Tête prélevée	Nombre de cas positif
<b>Hammamet</b>	1	Bovine +Caprine	12	0
	2	Bovine	2	0
	3	Bovine	4	0
	4	Ovine	11	1
	5	Ovine	15	4
<b>Boulhaf Dyr</b>	6	Bovine	2	0
	7	Bovine	4	0
	8	Bovine + Caprine	21	0
	9	Ovine	7	0
	10	Ovine	14	0
<b>Bir Dhehab</b>	11	Bovine +Caprine	5	0
	12	Bovine	3	0
	13	Bovine	3	0
	14	Bovine	4	0
	15	Bovine	5	0
	16	Bovine	8	0
	17	Ovine	11	1
<b>Guorriguer</b>	18	Bovine	1	0
	19	Caprine	6	0
	20	Ovine	13	0
<b>Telidjen</b>	21	Ovine	25	7
<b>Morsott</b>	22	Ovine	6	0
<b>El kouif</b>	23	Bovine	6	0
	24	Caprine	5	0
<b>Bir El ater</b>	25	Caprine	16	0
	26	Caprine	14	8
	27	Ovine	12	2
<b>Tébessa</b>	28	Caprine	5	0
<b>El meridj</b>	29	Ovine	11	1
<b>Ouenza</b>	30	Caprine	14	0
<b>El mezeraa</b>	31	Ovine	10	0
<b>Cheria</b>	32	Ovine	17	0
<b>Stahguentis</b>	33	Ovine	5	0
<b>El malabiod</b>	34	Bovine	6	0



**Figure 8:** Distribution de séropositivité en fonction de sexe

#### **Facteur présence d'avortement antécédent en dernière gestation**

Parmi les 268 femelles échantillonnées dans la région d'étude, 87 femelles ont été déclarés avoir subi un avortement au cours de la dernière gestation, dont 16 sont révélées séropositives soit un taux de séropositivité de 18.39%. En revanche 181 femelles sans antécédents d'avortements (allaitantes ou bien gestantes) ; seule huit cas se sont révélés séropositives, soit un taux de séropositivité de 4.41% (**Figure 9**).



**Figure 9:** La séropositivité en fonction de présence ou d'absence d'avortement

### 1.1.1. Facteur de classe d'âge

Nous avons classé notre échantillons en trois classe en fonction de leur âge et catégories de paréties : (i) Première classe inclus les femelles nullipares chez les trois espèces et les veaux moins d'une année, (ii) Deuxième classe inclus les femelles primipares chez les trois espèces et (iii) troisième classe inclus les femelles multipares et les mâles pubères chez les trois espèces.

Les résultats de tests sérologiques ont révélé que parmi les 30 animales testés de première classe, un seul cas a été séropositif (3.33%) ; pour la deuxième classe, parmi les 46 animales testés, quatre sérums sont révélés positifs (8.69%) et 19 animales se sont révélés positifs parmi 227 animales de troisième classe, soit un taux de séropositivité de 8.37% (Figure 10).

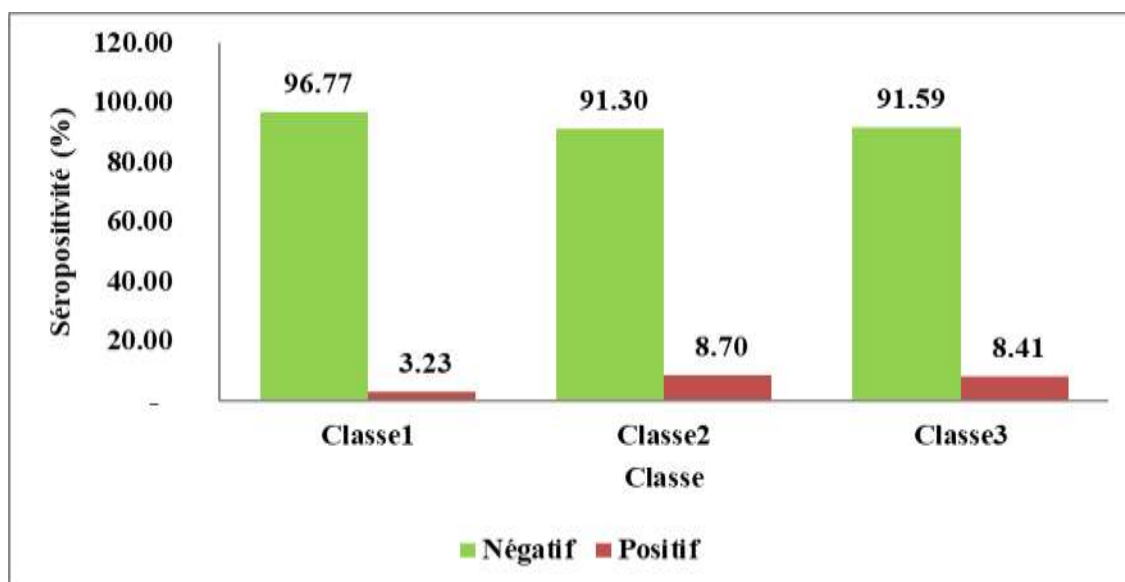


Figure 10: Distribution de séropositivité en fonction de catégorie d'âge

### 2.4. Résultats d'analyse statistique

L'analyse statistique des données a montré que seule la variable Présence des avortements en dernière gestation a une association significative avec la variable dépendante ( $p=0.001$ ) (Tableau 3).

**Tableau 3** : Résultats des analyses statistiques univariées

Variable	Catégorie	Numéro de tête prélevé	Cas positifs	valeur p	OR (IC 95%)
Espèce	Bovine	63	0	<b>0,01</b> <i>(Fischer exact)</i>	<b>Non Calculé</b>
	Caprine	84	8		
	Ovine	156	16		
Age	Classe1	31	1	<b><math>X^2=1,042</math></b> <b><math>p=0,592</math></b>	<b>NC</b>
	Classe2	46	4		
	Classe3	226	19		
Sexe	Male	34	0	<b><math>X^2=3,294</math></b> <b><math>p=0,089</math></b>	<b>NC</b>
	Femelle	269	24		
Avortement	Oui	86	16	<b><math>X^2=14,6</math></b> <b><math>p=0,001</math></b>	<b>4.97</b> <b>(IC 95% 2.04-12.14)</b>
	Non	182	8		

### **3. Discussion**

Cette étude a portée sur les trois espèces (Bovine ; ovine et caprine), les plus exploitées dans la wilaya de Tébessa ; ils ont considérés comme source potentiel de la contamination humaine par la bactérie *Brucella* spp.

Nous voulons d'avoir un nombre plus élevé (notamment pour l'espèce bovine), mais vue de l'indisponibilité des éleveurs et parfois par le manque de confiance de la part des propriétaires dans quelques élevages nous obligent de travailler avec des tailles différentes d'une espèce à autre. Cependant, vu que (i) les prélèvements ont été faits dans 34 troupeaux distribuent en 15 communes de la wilaya de Tébessa, (ii) qu'un échantillon aléatoire et rigoureux a été effectué pour les espèces ovine et caprine et (iii) que notre objectif principal est de savoir l'espèce le plus touchée par *Brucella* spp., nous pensons que les résultats obtenus dans cette étude sont valables.

Le test que nous avons utilisé pour analyser les sérums était le Rose Bengale (EAT). C'est un test rapide, simple, économique, qualifié spécifique et peu sensible, qui dépend de la situation épidémiologique de la maladie [1]. Le Rose Bengale reste sensible si la brucellose est bien contrôlée, c'est le cas de l'espèce bovine d'où un dépistage systématique effectué chaque six mois avec l'abattage systématique pour les cas confirmés séropositifs, sans implication de campagne de vaccination. En revanche, pour les deux autres espèces (ovine et caprine), l'implication de vaccination conjonctivale par le ministère de l'agriculture et de développement rural (MADR) depuis 2006 ; rend le test de Rose Bengale peu sensible ou douteux avec difficulté de distinction entre les anticorps d'une souche sauvage à celle vaccinale [54] [51].

Sur l'ensemble des 303 échantillons, 24 se sont révélés positifs à l'issue du Rose Bengale (taux de prévalence de 7,84%), avec un taux de 17.64% des troupeaux échantillonnés ont été détectés séropositifs. Ces prévalences indiquent que la brucellose est fort probablement soit présente dans la région d'étude, malgré les mesures prophylactiques (sanitaire et médicale) menée par l'état ; chose qui peut être confirmée par les taux de brucellose humaine signalés chaque année par la direction de santé de la wilaya. Cependant, un test de confirmation plus sensible nous aurait permis d'avoir une prévalence un peu plus réelle, l'ELISA serait la technique la plus sensible et la plus automatisable [47].

Dans cette étude, le taux de séroprévalence individuelle des anticorps anti-*Brucella* spp. détectés par le test EAT est plus élevé aux résultats d'autres études menées dans différentes régions en Algérie ; il est supérieur à ceux trouvés par **GABLI** et al, 2015 [17] dans le wilayet de Sétif et Batena, **AGGAD** 2003 [2] dans la région de Tiaret et de **NEHARI** et al,

## Partie bibliographique

2014 [37] dans la région d'el bayadh d'où les taux de séroprévalence individuelle sont 0.98%, 2.6% et 3% respectivement.

Les taux de troupeaux infecté est supérieur aussi aux études antérieurs en Algérie, notamment celle menée à l'échelle nationale par ministère de l'agriculture et de développement rurale (MADR) en 2014 d'où les taux de troupeaux infectés sont 5.68% chez les petits ruminants et de 0.76% chez l'espèce bovine [24].

La différence dans les taux de séroprévalence rapporté dans différentes études peut expliquer en grande partie par (i) le test de dépistage utilisé ; le test EAT peut donner des résultats incorrects à cause des réactions croisées avec des bactéries du même genre et ne peut pas distinguer les cas vaccinés des cas infectés [36] [54]. (ii) région d'étude d'où les systèmes d'élevage, les conditions écologiques sont différents ; (iii) la conception d'étude menée (taille d'échantillon et procédure d'échantillonnage) [42] [8].

Dans cette étude, les femelles ayant été avortée en dernière gestation ont cinq fois d'être séropositive que les femelles qu'ont pas d'avortement ; ceci n'indique qu'un lien statistiquement significatif ( $OR=4,97$  et  $p=0,001$ ) entre la séropositivité et la survenue d'avortement. Ce résultat n'indique pas que *Brucella* spp. est le vrai agent pathogène même chez les animaux séropositifs et ne n'exclut pas son effet abortif chez les animaux séronégatifs. la quantification de l'association entre la séropositivité et l'avortement est difficile à établir à cause de (i) l'incidence d'autres agents abortifs [6] [29] qui rend moins apparente de telles association ou qui réduit l'exactitude des techniques analytiques pour détecter la relation entre séropositivité-avortement, (ii) Le test de Rose Bengale reste un test de diagnostic indirecte, ses résultats positifs nécessitent une confirmation par autre technique de diagnostic direct comme la PCR ou le diagnostique bactériologique.



### Conclusion

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

Dans cette étude, la séroprévalence de cette maladie apparaît supérieure de ce qui a été enregistré au niveau d'autres études. A propos des résultats des tranches d'âge, nous pouvons suggérer que toutes les catégories d'âges sont infectées par cette bactérie, et les femelles avortées en dernière gestation sont les plus exposées à la séropositivité et on trouve que les espèces ovines et caprines sont les plus touchées que l'espèce bovines.

~~Le meilleur moyen de lutte est préventif, basé sur des mesures d'hygiène, la surveillance épidémiologique, le dépistage et la déclaration des cas positifs avec des programmes de vulgarisation et sensibilisation, l'éviction de la consommation des produits laitiers non pasteurisés et surtout la vaccination du cheptel.~~

~~Enfin, pour l'éradication de cette zoonose il faut insister sur l'étroite collaboration entre tous les parties concernées.~~



## Références

1. **ACHA P.N et SZYFRES, B.** (2005). Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, OIE: (éd. 2ème éd). . Paris, France,
2. **AGGAD, H.** (2003). Serological studies of animal brucellosis in Algeria, . Assiut veterinary medical journal, 49, , 121–130.
3. **BADDOUR, M. M.** (2012). Diagnosis of brucellosis in humans. Vet Adv , 149-156.
4. **BENKIRANE, A.** (2001). Surveillance épidémiologique et prophylaxie de la brucellose des ruminants. Revue scientifique et technique-office international des epizooties , 757-764.
5. **BRICKER, B. E.** (2000). Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals. clin microbiol , 1258-1262.
6. **BRUCE, D.** (1987). Note on the discovery of a micro-organism in Malta fever. Practitioner , 161-170.
7. **BUXTON, D. H.** (1999). Infectious abortion in sheep. In Practice , 21 (7), 360-368.[6]
8. **CHIMANA, H. M.** ( (2010)). . A comparative study of the seroprevalence of brucellosis in commercial and small-scale mixed dairy–beef cattle enterprises of Lusaka province and Chibombo district Zambia. Tropical animal health and production ,42 (7) , 1541-1545.
9. **CLOECKAERT, A. T.** (1999). *Brucella* Outer Membrane Lipoproteins Share Antigenic Determinants with Bacteria of the FamilyRhizobiaceae. these, , Institut National de la Recherche Agronomique, belgium france.
10. **CLOTILDE Marie, A. S.** (2006). Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie),. Thèse, Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse.
11. **DELVECCHIO, V. K.** (2002). The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. Proc Natl Acad Sci USA , 443-448.
12. **DETILLEUX, P. G.** ((1990)). "Entry and intracellular localization of *Brucella* spp. in Vero cells: fluorescence and electron microscopy.". Veterinary pathology27.5 , 317-328.
13. **EVANS, A.** (1918). Further Studies on *Bacterium Abortus* and Related Bacteria III. *Bacterium Abortus* and Related Bacteria in Cow's Milk. Journal of Infectious Diseases. , 354-372.

## Références

14. **EWALT, D. R.** (1994). Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). . Veterinary Diagnostic Investigation , 448-452.
15. **FINKE, E. H.** (2012). Bioterrorismus, infektiologische Aspekte. these, In Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen , Berlin, Heidelberg.
16. **FREER, E. R.** (1995). Heterogeneity of *Brucella abortus* lipopolysaccharides. Research in microbiology, , 569-578.
17. **GABLI, A. A.** ( 2015). Brucellosis in nomadic pastoralists and their goats in two provinces of the eastern Algerian high plateaus. Tropical animal health and production, 47(6), , 1043-1048.
18. **HAOA, B. a.** (2015). "Dynamics of a SEIVQ Epidemic Model for Brucellosis and the Analysis of Control Measures. international journal et science .
19. **JACQUES, e. a.** (2013). Brucellosis in terrestrial wildlife. Revue Scientifique et Technique. Office International des Epizooties .
20. **JAHANS, K. L.** (1997). The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. . veterinary microbiology , 373-382.
21. **JUMAS-BILAK, E. M.-C.** (1998). Differences in chromosome number and genome rearrangements in the genus *Brucella*. Molecular microbiology , 99-106.
22. **KAABOUB E, O. N.-K.** (2019). Serological and histopathological investigation of brucellosis in cattle in Medea region, Northern Algeria. Veterinary World, 12(5): , 713-718.
23. **KAITOUNI, R. I.** (2006). Engineering the spatial confinement of exciton polaritons in semiconductors. these, quantum electronics and peotonice.
24. **KARDJADJ, M.** (2016). The epidemiology of human and animal brucellosis in Algeria. . J BacteriolMycol, 3(2), , 1025.
25. **KITTEL Berger, R. e.** (1997). Serological crossreactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* . veterinary microbiologie , 361-371.
26. **KONE, A. H.** (2014). Evaluation de trois tests de depistage de la brucellose bovine pour une aide decisionnelle de controle de la maladie . these, ecole inter- etats des sciences et medecine vétérinaires de dakar.

## Références

- 27. MADKOU, r.** (2001). Historical Aspects of Brucellosis. Berlin, Heidelberg: Madkour's Brucellosis.
- 28. MANGEN, M. J.** (2002). Bovine brucellosis in sub-Saharan Africa: estimation of seroprevalence and impact on meat and milk offtake potential. Rome: Food and Agriculture organisation of the united nations.
- 29. MARSTON, J.** (1863). Report on Fever Malta. malta: Army Medical Department Report 520-521.
- 30. MAURIN, M.** (2005). La brucellose à l'aube du 21e siècle. Médecine et maladies infectieuses. , 6-16.
- 31. MENZIES, P. I.** (2011). Control of important causes of infectious abortion in sheep and goats. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, , 27 (1), 81-93.
- 32. MEYER, M. E.** (1976). Evolution and taxonomy in the genus *Brucella*. Brucellosis of rodents. Theriogenology , 263-272.
- 33. MICHAUX-Charachon, S. F.** (2002). *Brucella* à l'aube du troisième millénaire. Pathologie Biologie , 401-412.
- 34. MOLTO, N.** (2010). Les maladies réglementées chez les primates. these, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- 35. MORENO, E. S.** (1990). *Brucella abortus* 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. Journal of Bacteriology , 3596-3576.
- 36. MUÑOZ, P. M.-B.** (2005). Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false-positive serological resultats due to *Yersinia enterocolitica* O:9. Clinical and diagnostic laboratory immunology 12 (1) , 141-151.
- 37. NEHARI, H. A.** (2014.). Séroprévalence de la brucellose caprine et humaine dans la région d'El-Bayadh. , Review of industrial microbiology sanitary and environnemental, 8, , 78-88.
- 38. PAPPAS, G. e.** (2006). The new global map of human brucellosis. The Lancet infectious diseases , 91-99.

## Références

- 39. PAULSEN, I. T.** (2002). The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proceedings of the Nation* , 13148-13153.
- 40. PEDERSEN, K. e.** (2014). Identification of *Brucella suis* from feral swine in selected states . *Journal of wildlife diseases* , 171-179.
- 41. POLIAK, L. B.** (2010). Développement d'une PCR en temps réel pour la détection des *Brucella* et relations avec le genre *Ochrobactrum*. le Mans.
- 42. SANOGO, M. C.** (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), , 147-151.
- 43. SOHN, A. H.** (2003). Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. *Emerging infectious diseases* , 485-488.
- 44. SPLITTER, G. A.** (2003). Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. these, university of wisconsin, wisconsin madison.
- 45. STING, R. M.** (2013). Quantitative real-time PCR and phase specific serology are mutually supportive in Q fever diagnostics in goats. . *Veterinary microbiology*, , 167 ((3-4), ), 600-608.
- 46. THRUSTFIELD, M.** ( 2007.). *Veterinary Epidemiology*. 3rded,. Oxford: BlackwellPublishing,
- 47. THIS E., Y. M.** ( 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*. Tome LVIII. , 4.
- 48. VERMA, A. K.** (2015). Comparative studies on serological and molecular diagnosis of bovine brucellosis. *College of Veterinary Science and Animal Husbandry* .
- 49. VOTION, D.-M. e.** (2007). History and clinical features of atypical myopathy in horses in Belgium . *Journal of Veterinary Internal Medicine* . , 1380-1391.
- 50. WEIGHT, A. E.** (1897 ). On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid and Malta fever: and on the further application of the method of serum diagnosis to

## Références

the elucidation of certain problems in connexion with the duration of immunity. the lancet 149 (3836) , 656-659.

**51. WYATT, H. V.** (2005). . How Themistocles Zammit found Malta Fever (brucellosis) to be transmitted by the milk of goats. . Journal of the Royal Society of Medicine, 98(10), , 451-454).

**52. YAGUPSKY, P.** (1999). Detection of *Brucella* in blood cultures. Journal of clinical microbiology , 3437-3442.

**53. YANAG, i. M.** (1993). . Phylogenetic analysis of the family *Rhizobiaceae* and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and DNA sequencer. FEMS Microbiol Lett , 115-120.

**54. ZUNDEL, E. V.** (1992). Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with *Brucella melitensis* Rev 1 vaccine: safety and serological responses. Annals of Veterinary Research 23 (2): , 177-188.