

UNIVERSITE BLIDA-1

Institut des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTER

en sciences vétérinaires

Spécialité : Microbiologie médicale des maladies zoonotiques

**ETUDE SEROLOGIQUE ET HISTOPATHOLOGIQUE
DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS LA REGION
DE MEDEA**

Par

El aid KAABOUB

Devant le jury composé de :

R. KAIDI	Professeur, Université. Blida 1	Président
H.HAKAM	M.C. (A), Université. Djelfa	Examineur
M.N. MENOUEI	M.C. (A), Université. Blida 1	Examineur
K. BENACHOUR-OUMOUNA	M.C. (A), Université. Médéa	Promotrice

Blida, Février 2016

RESUME

La brucellose est la zoonose la plus répandue dans le monde. Sa transmission à l'homme se fait par des coccobacilles du genre *Brucella* suite au contact direct avec des animaux contaminés ou par la consommation de leurs produits laitiers non pasteurisés. Bien que la maladie soit connue endémique dans les pays du pourtour méditerranéen, en Algérie, malgré les programmes de lutte adoptés par l'état depuis 1970, et renforcé en 1995, la brucellose bovine reste à l'état enzootique, et la brucellose humaine connaît des variations d'une année à l'autre.

La présente étude porte sur trois volets, le premier volet comporte une étude rétrospective sur la brucellose humaine dans la wilaya de Médéa concernant les dix dernières années (2005-2014), le deuxième volet quant à lui s'applique à effectuer une enquête sérologique portant sur 300 prélèvements bovins dont 265 femelles et 35 males. Ce dernier avait pour objectif d'estimer la séroprévalence de la brucellose bovine ainsi que la distribution des différents foyers détectés. Enfin une étude histopathologique au niveau de deux abattoirs de la même wilaya (abattoir communal de Médéa et El Azizia) viendrait associer la séropositivité des individus aux lésions ganglionnaires supramammaires et retro-pharyngiens supposée y être associées.

Les résultats ont montré que durant cette dernière décennie, 884 cas humains ont été recensés au niveau de la wilaya de Médéa soit un taux d'incidence de 0,91% par 10⁵ habitants. L'âge de la majorité des patients (50,42%) était entre 20 – 44 ans. Le ratio du sexe masculin était de 1,53. Cependant la carte de distribution géographique des cas a montré que la partie Ouest de la wilaya était la plus touchée.

Sur les 300 prélèvements analysés et collectés parmi 58 élevages, 8 cas étaient séropositifs soit une prévalence de 2,71%. La brucellose est plus fréquemment détectée chez les bovins âgés de plus de 5 ans, soit un pourcentage de 10,09%, par rapport aux bovins âgés de 2 à 5 ans (1%). Une prévalence troupeau de (13,80%) a été enregistrée durant notre étude, avec un intervalle de confiance de IC [13,73 ; 13,87].

L'étude au niveau des deux abattoirs communaux (El Azizia et Médéa) a montré une séroprévalence apparente de la brucellose chez les vaches abattues de $11.11\% \pm 0.22$ avec une prévalence réelle de $11.31\% \pm 0.22$, durant notre investigation l'âge constituait un facteur de risque, la gestation et le type des bovins n'ont révélé aucune différence. L'étude histopathologique des ganglions rétropharyngiens et supramammaires chez les vaches séropositives au test de (E.A.T) ont présentées des lésions révélant une hyperplasie lymphocytaire évocatrice d'une adénopathie réactionnelle non spécifique, cependant la présence d'un granulome brucellique de Bang décelé uniquement chez un animal séropositif signe la spécificité de cette lésion.

Nos résultats montrent que la brucellose bovine persiste dans nos élevages, représentant un danger pour la santé animale ainsi que la santé publique, ce qui amène à revoir la stratégie de lutte appliquée à tous les niveaux.

Mots clés : Brucellose, Séroprévalence, Bovins, Histopathologie, Abattoir, El Azizia, Médéa.

ABSTRACT

Brucellosis is the most widespread zoonosis in the world. Its transmission to humans is by coccobacilli the genus *Brucella* due to direct contact with infected animals or by eating their unpasteurized dairy products. Although the disease is known endemic in Mediterranean countries, Algeria, despite control programs adopted by the state since 1970 and strengthened in 1995, brucellosis remains enzootic and human brucellosis knows variations from one year to another.

This study focuses on three components, the first component includes a retrospective study of human brucellosis in the province of Medea for the last ten years (2005-2014), the second installment meanwhile applies to conduct a serological survey 300 cattle samples including 265 females and 35 males. This last objective was to estimate the prevalence of bovine brucellosis and the distribution of the various outbreaks detected. Finally histopathological study at two slaughterhouses in the same wilaya (municipal slaughterhouse of Medea and El Azizia) would involve HIV positive individuals with glandular lesions supramammary and retro-pharyngeal supposed to be associated.

The results showed that over the past decade, 884 human cases have been reported at the province of Medea is an incidence rate of 0.91% per 105 inhabitants. The age of the majority of patients (50.42%) was 20 - 44 years. The ratio of male was 1.53. However, the geographical distribution map of cases showed that the western part of the province was the most affected.

Of the 300 samples collected and analyzed from 58 farms, 8 cases were positive for a prevalence of 2.71%. Brucellosis is most frequently detected in cattle older than 5 years, a percentage of 10.09%, compared to cattle aged 2 to 5 years (1%). A herd prevalence of (13.80%) was recorded during the study, with a confidence interval CI [13.73; 13,87].

The study at both municipal slaughterhouses (El Azizia and Medea) showed an apparent seroprevalence of brucellosis in cows slaughtered for 11.11% \pm 0.22 with an actual prevalence of 11.31% \pm 0.22 during our investigation was an age

risk factor, gestation and the kind of cattle showed no difference. Histopathological study retropharyngeal nodes and supramammiaries seropositive cows Test (EAT) were presented lesions revealing evocative lymphocytic hyperplasia nonspecific reaction lymphadenopathy, however the presence of a Bang brucella granuloma detected only in a seropositive animal sign the specificity of this lesion.

Our results show that bovine brucellosis persists in our farms, threatening the animal health and public health, which leads to review the fight applied at all levels of strategy.

Keywords: Brucellosis, seroprevalence, Cattle, Histopathology, Slaughterhouse, El-Azizia, Médéa.

ملخص

البروسيلوز هو مرض حيواني المنشأ، وهو الأكثر انتشارا في العالم. انتقاله للبشر يتم من خلال عصورات جنس البر وسيلا وذلك من خلال الاتصال المباشر مع الحيوانات المصابة أو الاستهلاك الغذائي لمشتقات الألبان الغير المبسترة. كما ننوه بأن هذا المرض هو معروف بكونه مستوطن في بلدان البحر الأبيض المتوسط، في الجزائر، وعلى الرغم من برامج مكافحة المنتهجة من قبل الدولة منذ عام 1970 والتي عززت في عام 1995، إلا أن بروسيلوز الأبقار لا يزال متوطنا بالحيوانات، مع العلم أن البروسيلوز البشري يعرف تغيرات من سنة إلى أخرى.

تستند هذه الدراسة على ثلاثة عناصر: العنصر الأول هو القيام بتحليل وبائي رجعي لجميع حالات داء البروسيلوز المسجلة خلال العشر سنوات الأخيرة (من 2005 إلى 2014) و المصروح بها من طرف مديرية الصحة و السكان لولاية المدية. في الجزء الثاني أجرينا دراسة وبائية عند الأبقار عن طريق تحليل المصل. لأجل ذلك قمنا بجمع 300 عينة (265 إناث و 35 ذكر)، و قد سطرنا هدفين، الأول تقدير نسبة حدوث المرض في الأبقار والثاني توزيع مختلف البؤر المكتشف عنها. وأخيرا دراسة لانتشار الوباء لدى الأبقار في مسلخين (مسلخ بلدية المدية والعزيرية)، و إجراء تحقيق في أنسجة الغدد الليمفاوية، خلف البلعوم وفوق الثدي للأبقار المصابة بالداء، وذلك للكشف عن أي آفات مرضية.

أظهرت النتائج أنه خلال العقد الماضي، تم تسجيل 884 حالة إصابة بالوباء أي بمعدل قدر 0.91% في 10⁵ نسمة، في ولاية المدية. معظم المرضى (50.42%) كانوا ممن تتراوح أعمارهم ما بين 20-44 عاما. نسبة الذكور مقارنة بالإناث كانت تعادل 1.53. أخيرا، أظهرت خريطة التوزيع الجغرافي للحالات المرضية أن الجزء الغربي للولاية كان أكثر تعرضا للإصابات المرضية.

من خلال تحليل 300 عينة التي تم جمعها في 58 مزرعة، كانت هناك 8 حالات إصابة بالداء، أي بمعدل 2.71%. لاحظنا في معظم الأحيان أن مرض البروسيلوز يكون بنسبة كبيرة لدى الأبقار التي يزيد عمرها عن 5 سنوات بنسبة 10.09%، مقارنة مع الأبقار التي يتراوح عمرها بين 2-5 سنوات (1%). وقد تم تسجيل معدل الانتشار في القطيع (13.80%) ، مع فاصل ثقة يقدر IC [13,73 13,87].

وأظهرت الدراسة في كل من المسلخين لبلديتي (العزيرية والمدية) إن نسبة الانتشار الظاهر لمرض البروسيلوز في الأبقار المذبوحة يقدر 11.11% ± 0.22 مع انتشار حقيقي من 11.31% ± 0.22، خلال تحقيقنا أظهرت النتائج أن العمر هو عامل خطر، أما بالنسبة لكل من عملي الحمل والعرق لم تكن لهما تأثير. الدراسة التشريحية المرضية للعقد اللمفاوية خلف البلعوم وفوق الثدي للأبقار المصابة، قدمت آفات موحية تكشف عن تضخم الغدد اللمفاوية و رد فعل غير محدد اعتلال عقد لمفية، وأيضا وجود آفة بانغ الحبيبي التي تكشف إلا عند الحيوان المصاب بداء البروسيلوز. نتائجا تظهر أن داء البروسيلوز الأبقار لا يزال متوطنا في مزارعنا، مما يهدد الصحة الحيوانية والصحة العامة، وهذا ما يستدعي إلى إعادة النظر في الإستراتيجية المنتهجة على جميع المستويات.

كلمات البحث: الحمى المالطية وانتشاره المصلي، مسلخ المواشي، دراسة نسيجية، العزيرة، المدية.

REMERCIEMENTS

A Madame K. Benachour-Oumouna.

Maître de Conférences à l'Université de Médéa, qui m'a permis de réaliser ce travail, pour son encouragement, sa disponibilité ainsi que pour les efforts qu'elle a consenti pour la correction de mon mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon estime.

A Monsieur M. Khames

Maitre assistant A à l'université de Médéa pour m'avoir aidé à la réalisation de ce travail. Sa disponibilité, son soutien et ses conseils m'ont permis de réaliser ce mémoire.

A Monsieur R. Kaidi

Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, qu'il trouve ici l'expression de ma parfaite reconnaissance et mes vifs remerciements.

A Monsieur M.N Menoueri

Maître de Conférences à l'Université Saad Dahlab Blida, qui m'a fait l'honneur de faire partie de mon jury, et de juger mon travail. Sincères remerciements.

A Monsieur H. Hakam

Maître de Conférences à l'Université de Djelfa, pour avoir bien voulu examiner mon travail. Sincères remerciements.

A toute l'équipe des laboratoires d'analyse biochimique et microbiologique (EPH Beni Slimane), et le Laboratoire de biologie Animale (U.Médéa), notamment, **Brahim, Farid, sayeh et madame Recham.** Je vous remercie infiniment pour votre gentillesse, votre amitié et pour votre aide précieuse.

A Monsieur M. Oumouna

Professeur à l'Université de Médéa, pour son encouragement, sa disponibilité et sa précieuse aide.

A Monsieur A. Dahmani

Maitre assistant à l'université de Saad Dahlab Blida, de m'avoir accueilli pendant toute la durée de la partie pratique au niveau de Ksar El Boukhari. Merci énormément.

A Monsieur H. Dahmani

Maitre assistant B à l'université de Saad Dahlab Blida, pour son aide précieux durant toutes les mauvais moments.

A Monsieur A. Hassani

Médecin vétérinaire privé au niveau de la commune de Ksar El Boukhari, de m'avoir facilité l'accès pour la réalisation de ce travail.

A Monsieur K. Rachid

Technicien en histologie au niveau de d'école supérieure nationale vétérinaire d'El harrach, pour ses conseils bénéfiques pour la réalisation de la partie histopathologie. Merci infiniment.

A Mlle B. Dahmani

Médecin vétérinaire, qui m'a vraiment aidé durant toute ma partie expérimentale, par son aide Moral, ses conseils, ses remarques et ses actions qui m'ont aidé à continuer la route.

A tous les vétérinaires de la wilaya de Médéa qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette enquête.

Aux populations de Médéa sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour. Merci pour votre coopération, votre sympathie, et pour votre bienveillance.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A ma mère ma source de tendresse pour son soutien, sa présence à mes côtés et son inquiétude pour ma réussite .Que dieu te garde pour nous.

*A la mémoire de mon père **Mohamed**. Que dieu lui accorde sa sainte miséricorde et l'accueille en son vaste paradis.*

A mes chers frères, mes chères sœurs et leurs familles.

Pour tous les bons moments passés ensemble et pour tous ceux à venir. Pour leur soutien, leur aide et leur sourire.

A toute ma grande famille.

A tous mes amis

Abdou, Madjid, Bakhti, Salah, Bachir, Asma, kahina, Sonia, Aziz, Ibrahim, Anes, Amine, Hamza, Soufiane, Amel et Leila.

Pour leur bonne humeur, leur gentillesse et pour tous nos fous rires partagés.

A tous les enseignants qui m'ont enseigné depuis mon enfance.

A tous ceux que j'aime et qui m'aime.

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	19
LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	21
CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LA BRUCELLOSE ANIMALE	21
1.1. Définition	21
1.2. Historique	21
1.3. Importance	23
1.3.1. Importance économique.....	23
1.3. 2. Importance Hygiénique	24
CHAPITRE 2 : ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE	25
2.1. Taxonomie	25
2.2. Morphologie et structure.....	26
2. 3.Caractères cultureux et conditions de croissance	27
2. 3.1. Caractères cultureux	27
2. 3.2. Conditions physico-chimiques.....	28
2.3.3. Milieux.....	28
2.4. Caractères Biochimiques	29
2.4.1. Caractères communs	29
2.4.1. Caractères particuliers aux différentes espèces.....	29
2.5. Caractères génétiques	30
2.6. Caractères antigéniques	30
2.7. Habitat.....	31
2.7.1. Survie dans l'environnement.....	32
2.7.2. Survie dans les denrées alimentaires	32

CHAPITRE 3 : ETUDE CLINIQUE ET DIAGNOSTIC DE LA BRUCELLOSE	34
3.1 La brucellose bovine	34
3.1.1. Pathogénie	34
3.1.1.1. Les conditions de l'infection	34
3.1.1.1.1. Facteurs tenant au <i>Brucella</i>	34
3.1.1.1.2. Facteurs tenant à l'hôte	35
3.1.1.1.2.1. Age	35
3.1.1.1.2.2. La gestation	35
3.1.1.1.2.3. L'individu	35
3.1.1.2. Les étapes de l'infection	36
3.1.1.2.1. Période primaire	36
3.1.1.2.2. Période secondaire	36
3.1.2. La réponse immunitaire	37
3.1.2.1. Réponse immunitaire humorale	38
3.1.2.1.1. La cinétique des anticorps	38
3.1.2.2. La réponse cellulaire	39
3.1.1. Symptômes	40
3.1.1.1. Atteintes génitales	40
3.1.1. 1. 1. Chez la femelle	40
3.1.1. 1.2. Chez le male	41
3.1.1.2. Atteintes extra-génitales	42
3.1.4. Lésions	42
3.1.4.1. Lésions microscopiques	42
3.1.4.2. Lésions microscopiques	43
3.1.5. Diagnostique	45
3.1.5.1. Diagnostique épidémio-clinique	45
3.1.5.2. Diagnostique expérimental	46
3.1.5.2.1. Diagnostique directe	46
3.1.5.2.1.1. Diagnostique bactériologique	46
3.1.5.2.1.2. Diagnostique moléculaire	47
3.1.5.2.2. Diagnostique Indirecte	48
3.1.5.2.2.1. Diagnostique sérologique	48
3.1.5.2.1.2.1. Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) = Test Rose Bengale	48
3.1.5.2.1.2.2. Séro-agglutination de Wright	49

3.1.5.2.1.2.3. La fixation du complément (FC)	50
3.1.5.2.1.2.4. Le test de l'anneau ou ring test (RT)	50
3.1.5.2.1.2.5. ELISA	51
3.1.5.2.1.2.6. Épreuve cutanée allergique à la brucelline.....	52

CHAPITRE 04 : EPIDEMIOLOGIE ET PROPHYLAXIE DE LA BRUCELLOSE.. 54

4.1. Introduction	54
4.1.1. Etude épidémiologique.....	54
4.1.1. 1. Epidémiologie descriptive.....	54
4.1.1. 1.1. Répartition géographique dans le monde	54
4.1.1. 1.2. Les espèces animales affectées	55
4.1.1. 2. Epidémiologie analytique	56
4.1.1. 2.1. Les sources de contagion	56
4.1.1. 2.2. Les matières virulentes	56
4.1.1. 2.3. Mode de transmission	57
4.1.1. 2.4. Voies de pénétrations.....	57
4.1.1. 2.5. Facteurs de sensibilité et réceptivité	58
4.1.1. 3. Epidémiologie synthétique	58
4.1.1. 3.1. Évolution dans l'effectif.....	58
4.1.2. Prophylaxie	59
4.1.2.1. Prophylaxie sanitaire	59
4.1.2.1.1. Dans les milieux infectés.....	59
4.1.2.1.2. Dans les milieux non infectés.....	60
4.1.3. Prophylaxie médicale	60
4.1.2.1. Le vaccin S19.....	61
4.1.2.2. Le vaccin RB51	62
4.1.4. Stratégies de contrôle de la brucellose	63
LA PARTIR EXPERIMENTALE.....	64

CHAPITRE 05 : ETUDE I : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE RETROSPECTIVE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE 64

5.1. Introduction	64
5.2. Matériel et méthodes.....	65
5.2.1. La Récolte des données.....	65
5.3. Résultats	65
5.3.1. Evolution dans le temps.....	65
5.3.1.1. Evolution des zoonoses.....	65
5.3.1.2. Evolution de la brucellose	68
5.3.2. Répartition selon l'âge.....	70
5.3.3. Répartition selon le sexe.....	72
5.3.4. Répartition selon la saison	73
5.3.5. Evolution dans l'espace	74
5.4. Discussion	76
5.5. Conclusion	81

CHAPITRE 06 : ETUDE II : SEROPREVALENCE DE LA BRUCELLOSE

BOVINE DANS LA REGION DE MEDEA.....	83
6.1. Introduction	83
6.2. Matériel & Méthodes	84
6.2.1. Indicateurs épidémiologiques.....	84
6.2.1.1. Région d'étude	84
6.2.1.2. Période d'étude	86
6.2.1.3. Définition de cas.....	86
6.2.1.4. Unité épidémiologique.....	86
6.2.1.5. Population d'étude	86
6.2.2. Echantillonnage.....	86
6.2.2.1. Plan d'échantillonnage	86
6.2.2.2. Critères d'inclusion.....	86
6.2.3. Nombre et caractéristiques des élevages	87
6.2.4. Identification de l'animal.....	87
6.2.5. Prélèvements	87
6.2.5.1. Analyses sérologiques des prélèvements	89
6.2.6. Collecte et saisie des données.....	91
6.2.7. Analyses statistiques.....	91
6.2.7.1 Calcul de la prévalence	91

6.2. 7. 2. Calculs des intervalles de confiance	91
6.3. Résultats	92
6.4. Discussion.....	103
6.5. Conclusion	109
CHAPITRE 07 : ETUDE III : LA RECHERCHE DES ÉVENTUELLES LÉSIONS CHEZ DES VACHES BRUCELLIQUES DANS DEUX ABATTOIRS (MEDEA ET EL AZIZIA).....	111
7.1. Objectifs	111
7.2. Matériel & Méthodes	111
7.3. Résultats	117
7.4. Discussion.....	129
7.4. Conclusion	133
CONCLUSION GENERALE.....	134
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	136
APPENDICES.....	138
A. La liste des abréviations	138
B. Nombre de cas de zoonoses et brucellose humaine déclarés dans la wilaya de Médéa (du 2004 au 2014)	140
C. La population humaine dans la période d'étude (2004-2014).....	144
D. La fiche d'élevage	148
E. Fiche de prélèvement (abattoir)	150
F. Fiche de prélèvement (terrain)	151
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	152

LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 : Les différentes espèces et biovars du genre <i>Brucella</i> et leurs pouvoirs pathogènes chez l'homme	26
Figure 2.2 : <i>Brucella spp.</i> Coloration de Gram	27
Figure 2.3 : <i>Brucella spp.</i> Coloration de Stamp	27
Figure 3.1. : Les étapes de l'infection due à <i>B.abortus</i> chez le bovin adulte	37
Figure 3.2. : Mécanismes cellulaires impliqués dans la réponse immunitaire contre les <i>Brucella</i>	40
Figure 3.3 : Avortement d'un vœu due à infection par <i>Brucella abortus</i> biovar 1	41
Figure 3.4 : Placentome montrant des cryptes caronculeuses	43
Figure 3.5 : Glande mammaire avec une infiltration interstitielle	43
Figure 3.6 : Endomètre avec une vaste zone d'érosion épithéliale	44
Figure 3.7 : Artériole d'endomètre avec une peinture murale et inflammatoire péri vasculaire infiltrée	44
Figure 3.8 : Ganglion mammaire avec sinus médullaires rempli de macrophages et des neutrophiles.....	44
Figure 3.9 : Plèvre viscérale fortement épaissi et une l'accumulation de fibrine et infiltrat inflammatoire diffuse.....	44
Figure 3.10 : Poumon montrant parois alvéolaires diffuse épaissies avec infiltrat inflammatoire interstitielle.....	45
Figure 3.11 : Bronchiole avec une grande quantité d'exsudat fibrineux dans la lumière	45
Figure 4.1 : Répartition géographique de <i>Brucella abortus</i> chez les animaux domestiques entre juillet et décembre 2010	55
Figure 5.1 : Proportion des zoonoses à Médéa, sur une période de 10 ans (de 2004 à 2014)	66
Figure 5.2 : Évolution de l'incidence (nombre des cas) de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014.....	69
Figure 5.3 : Évolution de taux d'incidence pour 10 ⁵ habitants de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014	70

Figure 5.4 : Répartition du nombre et du pourcentage des cas de la brucellose en fonction de l'âge	71
Figure 5.5 : Répartition de la brucellose humaine à Médéa selon le sexe	72
Figure 5.6 : Répartition mensuelles de la brucellose humaine à Médéa.	73
Figure 5.7 : Répartition géographique des 883 cas de la brucellose humaine à Médéa, de 2004 à 2014	75
Figure 5.8 : Incidence annuelle moyenne pour 105 habitants et par commune de la brucellose de la wilaya de Médéa entre 2004 et 2014.....	76
Figure 6.1: Carte géographique de la wilaya de Médéa.....	85
Figure 6.2 : Identification de l'échantillon et remplissage de la fiche de renseignement	88
Figure 6.3: Centrifugation	89
Figure 6.4: Récolte du sérum	89
Figure 6.5: Sérums dans des tubes Eppendorfs référenciés	89
Figure 6.6 : Préparation des sérums	90
Figure 6.7 : Agitation	90
Figure 6.8 : Résultats positif et négatif	90
Figure 6.9. : Distribution selon le type d'élevage.	92
Figure 6.10. : Présence d'avortement dans les élevages.....	93
Figure 6.11. Fréquence de récdivité des avortements	93
Figure 6.12 : La connaissance de la brucellose	94
Figure 6.13 : prévalence individuelle de la brucellose bovine	95
Figure 6.14 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction des troupeaux.	96
Figure 6.15 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction de l'âge	97
Figure 6.16 : Nombre de cas en fonction du sexe.....	98
Figure 6.17 : Nombre de cas en fonction de type de bovins	99
Figure 6.18 : Nombre de cas en fonction d'antécédents d'avortements.....	100
Figure 6.19 : Distribution des foyers brucelliques dans la wilaya de Médéa	102
Figure 7.1 : Situation géographique des deux abattoirs (Médéa à gauche, El Azizia à droite)	112
Figure 7.2 : La fixation des ganglions dans le formol a 10%	114
Figure 7.3 : Identification des cassettes	115

Figure 7.4 : Les bains de déshydratation	115
Figure 7.5 : Etuve pour la paraffine fondue	115
Figure 7.6 : Inclusion dans les blocks	115
Figure 7.7 : Réalisation des coupes par le microtome	116
Figure 7.8 : Séchage des lames	116
Figure 7.9 : Prévalence apparente dans les deux abattoirs, Médéa et El Azizia	118
Figure 7.10 : Prévalence de la brucellose en fonction des caractéristiques des bovins prélevés	120
Figure 7.11 : Ganglion de control 40xg	122
Figure 7.12 : Ganglion de control 40xg	122
Figure 7.13 : Ganglion de control 400xg	123
Figure 7.14 : Ganglion prolifératif phase aigue ou subaigüe 40xg	124
Figure 7.15 : Ganglion hyperplasique 100xg	124
Figure 7.16. : Ganglion réactionnel 100xg	125
Figure 7.17 : Ganglion réactionnel 400xg	125
Figure 7.18 : Ganglion siège d'un granulome inflammatoire 40xg	126
Figure 7.19 : Détails du granulome de Bang100xg	126
Figure 7.20 : Granulome de Bang à centre nécrotiques 100xg	127
Figure 7.21 : Granulome de Bang400xg	127
Figure 7.22 : Granulome de Bang 400xg	128

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Identification par cultures cellulaire des trois espèces de <i>Brucella</i>	30
Tableau 2.2 : Survie des <i>Brucella</i> dans l'environnement	32
Tableau 3.1 : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique	52
Tableau 5.1 : Evolution du nombre de cas de zoonoses à Médéa, de 2004 à 2014	67
Tableau 5.2 : Évolution de l'incidence (nombre et taux) déclarés de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014	69
Tableau 5.3 : Répartition de nombre des cas selon l'âge	71
Tableau 5.4 : Nombre de cas selon le sexe	72
Tableau 5.5 : Répartition mensuelle des cas de brucellose humaine	73
Tableau 5.6 : Répartition dans l'espace (distribution dans les communes)	74
Tableau 6.1 : Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des troupeaux.	95
Tableau 6.2: Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des classes d'âges	96
Tableau 6.3 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction du sexe	97
Tableau 6.4 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction de type de bovins.....	99
Tableau 6.5 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction d'antécédents d'avortements	100
Tableau 6.6. : Numéro et nombre de foyers pour chaque commune	101
Tableau 7.1 : Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants dans les deux abattoirs.....	117
Tableau 7.2 : Prévalence de la brucellose en fonction des caractéristiques des bovins prélevés	119

INTRODUCTION

La brucellose est une zoonose majeure d'importance mondiale, elle est causée par une bactérie du genre *Brucella*. Bien qu'entièrement éradiquée ou en voie de l'être dans plusieurs pays industrialisés, elle reste en revanche omniprésente dans les pays en voie de développement constituant ainsi une source de préoccupation croissante [1.2]. Son importance est à la fois reliée aux baisses de rendement observées aux seins des élevages infectés due aux avortements ainsi qu'aux saisies systématiques de carcasses d'animaux considérés comme impropres à la consommation, car susceptibles de constituer une source d'infection pour l'homme [3]. Pour l'homme elle reste une pathologie à tableau clinique protéiforme non spécifique dont le cout du traitement fort onéreux reste un facteur limitant surtout dans les pays du tiers monde [4].

En Algérie, comme dans les pays méditerranéens, la prévalence de la brucellose est toujours élevée, malgré l'instauration du programme de lutte en 1995 (dépistage/abattage) et son renforcement par la vaccination obligatoire des petits ruminants en 2006.

De part sa vocation agro- pastorale, la wilaya de Médéa constitue une zone d'étude fort intéressante où l'élevage bovin est assez appréciable (75000 têtes). Cependant le développement du secteur de l'élevage bovin est souvent entravé par le développement sporadique de cas de brucellose bovine dont les conséquences directes seraient des pertes économiques considérables (abattage sanitaire, avortements, pertes en lait) ainsi que des répercussions systématiques sur la santé des individus en contact étroit avec les animaux infectés (les éleveurs, les vétérinaires , le personnel des abattoirs...).

Afin de cerner la situation sanitaire au seins de notre région d'étude, nous nous sommes fixés comme principaux objectifs , de procéder d'abord à une relocalisation dans le temps et l'espace de cette maladie , en se basant pour la première sur les statistiques des 10 dernières années et pour la seconde sur la

séroprévalence enregistrée au seins des différentes régions de la willaya de Médéa tout au long du temps réservé à notre étude.

Ajouté à cela une analyse plus pointue au niveau de deux abattoirs de la wilaya de Médéa viendrait rechercher chez des vaches sérologiquement positives, des lésions ganglionnaires éventuelles.

CHAPITRE 1 GENERALITES SUR LA BRUCELLOSE ANIMALE

1.1. Définition

La brucellose (ou fièvre de Malte, mélitococcie, fièvre ondulante ou fièvre sudoroalgique) est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'homme (zoo-anthroponose) [5], due à des bactéries Gram négatif du genre *Brucella*. Il y a actuellement six espèces de *Brucella* connues : *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* et *Brucella canis* [6]. Ces bactéries ont un tropisme génital qui conduit à des avortements.

Son extension est mondiale avec une prédominance dans le pourtour du bassin méditerranéen et les pays en voie de développement où elle pose encore un véritable problème de santé publique et représente un surcoût économique important [6, 7, 8].

1.2. Historique

Ce n'est qu'au XIXe siècle que la brucellose a été considérée comme entité nosologique, par des médecins militaires anglais installés sur l'île de Malte [9].

La première description clinique fiable de la brucellose a été attribuée à Allen Jeffery Marston en 1859, et l'agent causal (nommé initialement *Micrococcus melitensis*) fut isolé pour la première fois en 1886 par David Bruce, à partir de rates de militaires n'ayant malheureusement pas survécu à la fièvre de Malte [10]. Les méthodes diagnostiques de cette maladie furent pour la première fois soulevées par Almroth Wright qui en 1897 décrivit la séroagglutination en tube.

Quelques années plus tard Themistocles Zammit (1905), bactériologiste maltais a cité la chèvre comme principal réservoir de l'agent étiologique de la brucellose sur l'île de Malte. La brucellose ou fièvre de Malte est ensuite décrite dans de nombreuses autres régions, sous différentes dénominations à savoir la fièvre de Crimée, fièvre de Gibraltar, fièvre de Chypre, fièvre de Crète, fièvre de

Constantinople etc. Cependant, en 1895 Bernard Bang, vétérinaire danois, isole chez des bovins présentant des avortements à répétition une nouvelle bactérie, qu'il nomme *Bacillus abortus*.

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* et *Brucella abortus*) en l'honneur des travaux de Bruce. Quatre autres espèces sont ensuite caractérisées :

- **En 1914** *B. suis* isolée par Traum chez des truies présentant des avortements ;
- **1953** *B. ovis* isolée de moutons;
- **1957** *B. neotomae* espèce isolé de rats du désert (*N. lepida*) dans l'Utah (États-Unis), et
- **1966** *B. canis* reconnue par Carmichael comme agent d'avortements chez la chienne de race Beagle

En fait, de nombreux mammifères terrestres constituent un réservoir potentiel pour les bactéries du genre *Brucella*. Plus récemment en Californie (États-Unis en 1994) [11], un cas d'avortement chez un dauphin en captivité a été décrit. Cependant les *Brucella* en causes étaient différentes des espèces précédemment isolées. D'autres souches semblables sont ensuite isolées chez des dauphins, mais également chez d'autres mammifères marins, tel que des phoques ou des marsouins [12]. 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* [13].

L'existence de la brucellose en Algérie remonte au 19ème siècle. En effet, les premières descriptions de la maladie ont été faites par Cochez en 1895, qui soupçonna l'existence de cette maladie à Alger, puis en 1899 par Legrain dans la vallée de la Soummam -Au début du 20ème siècle, elle fut diagnostiquée cliniquement par Brault puis bactériologiquement pour la première fois par Gillot. Ainsi, elle fût révélée en premier chez l'homme.

Suite à ces observations, des recherches furent instituées en 1907 sur des élevages caprins par Sergent et collaborateurs à Alger et Oran. Ces études révélèrent l'infection non seulement des caprins mais aussi des autres animaux domestiques. Le taux était élevé dans les élevages comprenant des chèvres maltaises.

A l'issue de ces travaux, le gouverneur général d'Algérie fit un arrêté interdisant l'importation de caprins et bovins provenant de Malte (le berceau de la brucellose) Celles ci furent les premières mesures prophylactiques entreprises à l'encontre de la brucellose. Entre 1911 et 1956 Plusieurs travaux de recherche ont été élaborés en Algérie confirmant ainsi l'omniprésence de la brucellose à l'Ouest (Oran), au Centre (Alger), à l'Est (Constantine) et même au Sud (Hoggar) du pays.

Dès la découverte de la brucellose en Algérie, plusieurs travaux relient son origine au nord, à l'importation de chèvres espagnoles et de chèvres et vaches maltaises et à l'ouest par les caravanes marocaines.

1.3. Importance

La brucellose est reconnue à travers le monde comme étant la maladie zoonotique la plus répandue. Cette maladie a deux importances :

1.3.1. Importance économique

Selon la FAO l'importance économique de la brucellose est principalement liée aux pertes de protéines animales sous forme de viande, de lait et de produit laitiers [14], ainsi que des pertes économiques liées aux produits de l'élevage qui en découlent (avortement, lait et laine)[15] ,suivi de la destruction systématique des animaux infectés dans les pays pratiquant une politique de lutte contre la maladie par l'abattage partiel ou total, soit encore parce que des restrictions commerciales existent et empêchent l'exportation ou la circulation d'animaux ou de produits animaux vers des zones indemnes.

Il faut aussi ajouter à cela les coûts de mise en place des programmes de contrôle ou d'éradication qui comprennent les indemnités aux éleveurs, le fonctionnement des services vétérinaires et les coûts de la vaccination.

Des pertes économiques liées directement aux individus, couts du traitement estimé approximativement à 3452,08 DA d'un cas confirmé de brucellose humaine (MSA), diminution du revenu par perte de salaire et baisse de productivité.

1.3. 2. Importance Hygiénique

La brucellose est une zoonose majeure à répartition mondiale qui serait responsable de 500 000 nouveaux cas humains par an dans le monde [16].

C'est une infection systémique, avec des symptômes initialement non spécifiques, pouvant évoluer vers des complications touchant tous les organes et nécessitant souvent une hospitalisation et un traitement long et astreignant. Certains patients développent une forme chronique qui peut durer plusieurs années. Elle peut entraîner des cas de mortalité, le plus souvent elle se traduit par un état débilitant aigu ou chronique ayant des conséquences sévères sur le développement économique et social [17]. C'est une maladie à déclaration obligatoire, classée par OIE dans la liste B des maladies animales.

CHAPITRE 2 ETUDE DE L'AGENT PATHOGENE

2.1. Taxonomie

Les *Brucella* appartiennent au groupe alpha des *Proteobacteria* [18], et à la famille des *Rhizobiaceae* [19]. Les espèces bactériennes les plus proches sur le plan phylogénique sont notamment les *Bartonella*, autres bactéries responsables de zoonoses ; des bactéries de l'environnement, rarement isolées chez l'homme (*Ochrobactrum anthropi*, *Afipia*, *Bosea*) ; et des bactéries pathogènes ou symbiotes de plantes (*Rhizobium*, *Agrobacterium*).

Sur le plan taxonomique, le genre *Brucella* a été anciennement divisé en six espèces, elles-mêmes séparées en biovars, en fonction notamment d'une relative spécificité de l'hôte animal naturel (Figure 2.1). En accord avec cette classification ancienne, des noms d'espèces ont été proposés pour différencier les souches isolées de mammifères marins [12] : *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) [21,22].

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 monospécifique. 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* [19,12]. Les anciennes espèces sont ramenées au rang de sous espèces ou nomenclatures.

Espèce	Biovars	Répartition géographique principale	Hôte animal habituel	Pathogénicité chez l'homme
<i>B. abortus</i>	1 à 6, et 9	ubiquitaire	bovins, ongulés sauvages	modérée
<i>B. melitensis</i>	1 à 3	bassin méditerranéen, moyen orient	ovins, caprins, ongulés sauvages	forte
<i>B. suis</i>	1 et 3	Amérique, Asie, Océanie	suidés	forte
<i>B. suis</i>	2	Europe centrale et occidentale	suidés et lièvres	Faible ^a
<i>B. suis</i>	4	Amérique du Nord, Russie	rennes	modérée
<i>B. suis</i>	5	Russie	rongeurs sauvages	forte
<i>B. canis</i>		ubiquitaire (fréquence élevée en Amérique du sud)	chiens	faible
<i>B. ovis</i>		bassin méditerranéen	ovins	nulle
<i>B. neotomae</i>		Utah (États Unis)	rats du désert	non connue
<i>B. cetaceae</i>		non connue	cétacés (dauphins)	non connue
<i>B. pinnipediae</i>		non connue	pinnipèdes (phoques, otaries)	non connue ^b

Figure 2.1. : Les différentes espèces et biovars du genre *Brucella*, leur caractéristiques épidémiologiques, et leur pouvoirs pathogènes chez l'homme [23,24]

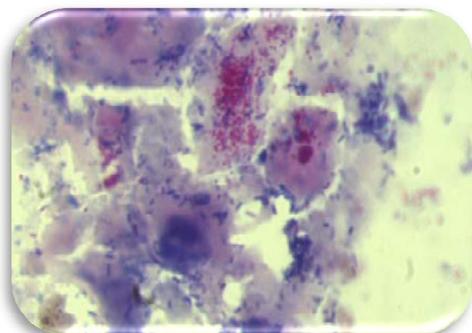
2.2. Morphologie et structure

Les travaux de DUBRAY ont contribué à la bonne connaissance de la morphologie et de la structure de ces bactéries. A l'état frais, les *brucellas* se présentent sous la forme de petits coccobacilles de 0,6–1,5 µm de long et 0,5–0,7 µm de diamètre [25], asporulés, immobiles mais animés de forts mouvements browniens. Elles apparaissent généralement isolées ne produisent ni de capsule, ni de flagelle [26].

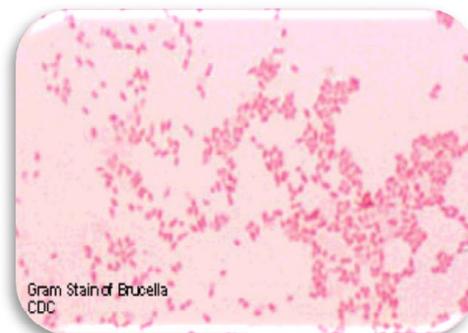
Coccobacilles à gram négatif, elles ne présentent pas de coloration bipolaire. Elles résistent à la décoloration par des bases ou des acides faibles comme ceux employé dans les colorations de stamp, Marchiavello (Figures 2.2, 2.3) [27,28].

Les *Brucella* ont une structure conforme à celle des autres bactéries Gram négatif. Leur paroi mesure 20 à 30 nm d'épaisseur et leur membrane cytoplasmique 7 à 10 nm. Elles comportent une enveloppe cellulaire composée d'une membrane cytoplasmique interne surmontée par une couche rigide de peptidoglycanes associée à la membrane externe. Cette dernière contient des lipopolysides, appelés aussi lipopolysaccharides (LPS) ou encore endotoxines.

Les LPS existent sous deux formes, M et A, dont les chaînes polysaccharidiques sont très semblables entre elles [29, 30].



Figures 2.2: *Brucella* spp. Coloration de Gram [31].



Figures 2.3: *Brucella* spp. Coloration de Stamp [32].

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 [30,33]. Cette organisation est retrouvée chez la plupart des espèces, sauf pour *B. suis* biovar 3 qui ne comprend qu'un seul chromosome circulaire de 3,2 Mb [34]. Les séquences complètes des génomes de *B. melitensis* souche 16M et *B. suis* souche 1330 sont disponibles depuis 2001 [30,35], et celui de *B. abortus* est en cours de détermination. Les *Brucella* ne possèdent pas de plasmide.

2. 3. Caractères cultureux et conditions de croissance

2. 3.1. Caractères cultureux

Leur croissance nécessite l'utilisation de milieux enrichis au sang, et certaines souches se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10 % de CO₂. L'isolement des *Brucella* en primoculture 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 [12].

- En milieu liquide Après une incubation de 7 jours à 37°C, les souches lisses produisent un trouble modéré, uniforme et homogène, avec l'apparition dans certains cas d'un voile très fragile et d'un dépôt poudreux clair, les souches rugueuses peuvent produire un dépôt granuleux, la formation de trouble et de pellicules est variable [30].

- En milieu semi solide les cultures de *B. abortus* et de *B. ovis*, dépendantes de CO₂ produisent un disque de croissance de quelques millimètres au dessous de la surface. Alors que les *Brucella* CO₂ indépendantes produisent un aspect trouble uniforme de quelques millimètres de la surface vers le fond. En général, les colonies des brucelles deviennent visibles dans les milieux solides après une incubation de 3 à 4 jours, lorsqu'on regarde les boîtes devant une source de lumière (de préférence lumière solaire indirecte) les colonies vues à travers le milieu transparent sont rondes, de 1 à 2 mm de diamètre, à bords lisses, translucides, avec une surface lisse et brillante, et de couleur jaune pâle ambré. Plus tard, elles grossissent et brunissent mais restent translucides, vues de dessus, elles sont convexes, blanc nacré [30,9].

2. 3.2. Conditions physico-chimiques

Les conditions physico-chimiques nécessaires à la croissance des *Brucella* sont les suivantes :

- Le pH permettant la croissance des *Brucella* varie entre 6,6 et 7,4 ; le pH optimal est de 6,8;
- La température de culture peut varier entre 20 et 37°C, la température optimale se situant à 34°C; (Maurain)
- La pression osmotique optimale est de 203-607 kPa ;
- Les *Brucella* sont aérobies strictes. L'apport d'oxygène aux cultures favorise d'ailleurs leur croissance/Toutefois, certaines espèces nécessitent l'ajout de dioxyde de carbone pour leur culture (5-10%) [27,32].

2.3.3. Milieux

Les souches conservées au laboratoire poussent sur des milieux usuels. De nombreux milieux ont été employés depuis que BRUCE en 1887, a utilisé un bouillon de viande et Stafseth, en 1920, un milieu à base d'infusion de pommes de terre additionné de glycérine [28]. Les plus fréquemment utilisés sont :

- Les milieux solides : gélose dextrosée au sérum, milieux commerciaux (gélose trypticase soja, gélose tryptosée), gélose au sang ;
- Les milieux liquides : bouillon trypticase soja, bouillon tryptosé ;

- Les milieux sélectifs : ils correspondent aux milieux habituels additionnés d'antibiotiques ou antifongiques (milieu de Farell, Kuzdas et Morse) [28].

Il est toutefois recommandé d'employer un milieu solide, de préférence à un milieu liquide, car celui-ci facilite l'identification et l'isolement des colonies en croissance. CORNER et coll. ont étudié la culture de *Brucella abortus* sur milieu biphasique (solide et liquide), comparativement à un milieu solide. Il en ressort que c'est un substrat efficace, mais que pour obtenir **des** résultats optimum, il convient de cultiver *Brucella* sur ces deux milieux (biphasique et solide) [36].

2.4. Caractères Biochimiques

2.4. 1. Caractères communs

Les espèces de *Brucella* n'acidifient pas de façon visible les milieux sucrés. Elles ne produisent pas d'indol en eau peptonée. L'urée est hydrolysée (sauf par *B. Ovis*), les nitrates sont réduits en nitrites (sauf par *B. Ovis*). Elles présentent irrégulièrement une oxydase et de façon constante une catalase plus au moins active [37].

2.4.2. Caractères particuliers aux différentes espèces

Il existe plusieurs sortes de *Brucella* qui ont été individualisées par Huddleson, étudiant les résultats fournis par trois tests :

- Exigence en CO₂,
- Production d'H₂S,
- Sensibilité à la thionine et à la fuchsine (à des concentrations déterminées).

Cela a permis l'identification de trois espèces dangereuses pour l'homme à savoir: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *brucella suis*. Les caractéristiques d'identification pour les autres espèces de *Brucella* sont reportées dans le tableau suivant (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Identification par cultures cellulaire des trois espèces de *Brucella* [38].

Espèces	Exigence en CO ₂	Production d'H ₂ S	Résistance à Thionine	Résistance à Fuchsine basique
<i>B. melitensis</i>	-	- ou traces	+	+
<i>B. abortus</i>	+	+ en 2 j. et plus	-	+
<i>B. suis</i>	-	++ en 4 j.	+	-

2.5. Caractères génétiques

En dépit des différences phénotypiques considérables parmi les espèces de *Brucella*, tous partagent une homologie d'ADN supérieure à 90%. *Brucella melitensis* et *B. suis* partagent de 90 à 100% d'identité au niveau de nucléotide. Chaque espèce dans le genre a une taille moyenne de génome d'approximativement 3.29 mb et, composée de deux chromosomes circulaires, le chromosome I, représente en moyenne 2.11 mb, le chromosome II est d'une taille avoisinant 1.18 mb. La teneur en bases azotées G + C de tous les génomes de *Brucella* est de 57.2% pour le chromosome I et 57.3% pour le chromosome II. [39]

2.6. Caractères antigéniques

Le lipopolysaccharide (LPS) est l'antigène le plus immunogène [40]. 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 [10].

Le LPS constitue l'antigène majeur des *Brucella* en phase lisse et la majorité des anticorps sont spécifiques d'anticorps produits chez l'hôte infecté sont spécifiques d'épitopes porté par cette molécule [14]. Les molécules LPS-S sont porteuses des épitopes A et M dont la distribution quantitative est variable selon les biovars des *Brucella* lisses. En effet, *B. abortus* comporte plus de

déterminants A que de M, *B. melitensis* possède plus de M que de A et *B. suis* renferme des proportions intermédiaires mais plus de A que de M [41].

Le lipopolysaccharide (LPS) des espèces *Brucella* en phase S contient un lipide A, des acides gras caractéristiques et des chaînes latérales O (O-PS) formés d'homopolymères. Ce homopolymère se révèle d'un grand intérêt non seulement du point de vue diagnostique ou prophylactique, mais aussi pour ce qui est de l'évaluation de la virulence et du pouvoir pathogène du genre *Brucella* [42]. La structure de LPS des souches en phase R est à peu près la même que celle des souches S, excepté que la chaîne O est absente, ou réduite à quelques résidus. De ce fait, la spécificité est conditionnée par le noyau polysaccharidique [43].

Il existe d'autres antigènes de surface

- Le polysaccharide haptène natif (HN), il donne une réaction immunologique d'identité avec l'haptène acétopolysaccharidique (HA).
- Un autre polysaccharide, appelé le poly B, est présent dans le cytoplasme, il présente avec certains sérums, une réaction d'identité avec le HA et l'HN.
- Les antigènes internes, on constate la présence d'au moins 20 antigènes protéiques pour la plupart d'origine intracellulaire.

Comme chaque réaction sérologique, on constate la présence des réactions sérologiques croisées se produisant entre les espèces de *Brucella* spp. et *Yersinia enterocolitica* O :9, ou plus accessoirement *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O :1, *Escherichia hermannii*, *E. coli* O:157, et *Salmonella* O:30 [44]. Certaines protéines sont responsables de réactions sérologiques croisées entre *Brucella* spp. et d'autres membres de la famille des Rhizobiales [45].

2.7. Habitat

On constate la présence des *Brucella* chez les animaux brucelliques qui jouent le rôle du réservoir de la brucellose, comme on peut les trouver dans produits alimentaires ainsi que dans l'environnement.

2.7.1. Survie dans l'environnement

Dans les conditions favorables, les *Brucella* peuvent survivre dans leur environnement pendant de très longues périodes. Leur capacité à résister à l'inactivation dans le milieu naturel est relativement élevée par rapport à la plupart des autres groupes de bactéries pathogènes non sporulantes. [46]. Elles survivent jusqu'à quatre mois dans le lait, les urines, l'eau et les sols humides [47]. En effet, les *Brucella* peuvent survivre plus de 8 mois dans un avorton à l'ombre, 2 à 3 mois dans un sol humide, 3 à 4 mois dans les fèces et plus de 6 mois dans les fosses à purin [43]. Les *Brucella* sont néanmoins sensibles à la chaleur et sont détruites par la pasteurisation, les matériels contaminés peuvent ainsi, être désinfectés par la vapeur à haute pression [48]. Le (tableau 1.2) résume la résistance des *Brucella* dans l'environnement.

Tableau 1.2 : Survie des *Brucella* dans l'environnement [49].

Milieu	Température/Environnement	viabilité
Rayonnement solaire direct	< 31°C	4h30
Sol	Sec	4 jours
	Humide	2 mois
	Froid	5-6 mois
Eau	-4°C	4 mois
	37°C	< 1 jour
foetus	A l'ombre	6 mois
Urine	37,5°C	16 heures
	8°C	6 jours
Fumier	Été 25°C	1 jour 1 mois
	Hiver (-3 à 8°C)	2 mois-1 an
Purin	Été-hiver	3-6 mois
Lisier	10-15°C en tonne	1,5-8 mois
Laines	En entrepôt	4 mois
Foin		Quelques jours à quelques mois
Poussières de rue Barrière d'enclos ou sol en Bois		3 à 44 jours 4 mois
Pâturage	Ensoleillée	15 jours
	Ombragée	35 jours
Lait	72°C	5-15 secondes
	35-37°C	1 jour
	0°C	18 mois
Fromages	Selon type	6jours à 6 mois

2.7.2. Survie dans les denrées alimentaires

La survie des *Brucella* dans le lait et les produits laitiers est liée à de nombreux facteurs (type de produit, teneur en eau, température, modification de pH, action biologique des bactéries présentes, durée et conditions de conservation

du produit). La persistance dans les fromages secs ou fermentés affinés est courte (moins de 20 jours). Par contre, dans les fromages frais ou conservés sous forme de pâte, elle peut être beaucoup plus longue (3 mois) [37].

On a aussi constaté que le fromage de vache est plus longtemps infectant que le fromage de chèvre [50].

La survie dans la viande est très courte. La contamination à partir de carcasses d'animaux brucelliques est donc exceptionnelle. En outre, elle peut être facilement évitée par un dépouillage rigoureux et dans de bonnes conditions d'hygiène de la mamelle, des organes génitaux et des nœuds lymphatiques à l'abattoir.

CHAPITRE 3

ETUDE CLINIQUE ET DIAGNOSTIC

3.1 La brucellose bovine

Due le plus souvent à *Brucella abortus*, elle touche les bovins ainsi que d'autres ruminants domestiques ou sauvages et sa clinique est caractérisée par des troubles de la reproduction. Présente à l'échelle mondiale, grâce à une lutte efficace, certains pays en sont toutefois indemnes.

3.1.1. Pathogénie

3.1.1.1. Les conditions de l'infection

3.1.1.1.1. Facteurs tenant aux *Brucella*

- **Facteurs qualitatifs** : Le pouvoir pathogène des *Brucella* varie selon les espèces (*B. melitensis* étant classiquement plus virulente) et les souches. Le mécanisme de ce pouvoir pathogène reste en grande partie inexplicé. Cependant, la fraction soluble dans le phénol des LPS de la membrane externe de la paroi semble jouer un rôle important, car les souches R (rough), dont les chaînes polysaccharidiques du LPS sont incomplètes, sont peu pathogènes [37].
- **Facteurs quantitatifs** : Le pouvoir pathogène est aussi lié à l'importance de l'inoculum. Selon MAC EWEN, l'instillation conjonctivale de 10^5 *B. abortus* à des génisses permet d'obtenir un taux d'infection de 50 % [39].

3.1.1.1.2. Facteurs tenant à l'hôte

La réceptivité des bovins à *B. abortus* dépend de l'âge, du sexe et de l'état de l'animal.

3.1.1.1.2.1. Age

- **Période fœtale** : L'infection du fœtus in utero s'effectue généralement par une septicémie mortelle. Cependant, dans certains cas, en fin de gestation et lors de contamination faible, le veau est viable. L'infection contractée par le fœtus in utero demeure alors latente chez le veau jusqu'à l'âge adulte, l'animal restant séronégatif et cliniquement sain jusqu'à sa première mise-bas. On note aussi Certain veaux nés d'animaux porteurs sains sont séropositifs durant les 4 à 6 premiers mois de vie du fait des anticorps colostraux, puis deviennent séronégatifs [51].
- **Période pré pubère** Le jeune animal pré pubère (avant 6 mois) est bien réceptif, mais sa sensibilité à l'infection est nulle. La maladie 'est par conséquent jamais exprimée durant cette période. Dans le cas contraire, l'animal récupère très rapidement [49].
- **Période poste pubère** : La période post-pubère, après développement complet des organes génitaux, est la phase de sensibilité maximale [49].

3.1.1.1.2.2. La gestation

La sensibilité augmente avec le stade de gestation. Plus le nombre de vaches avortant ou vèlant est grand, plus le risque de contamination des autres vaches augmente. Peu de femelles infectées guérissent complètement et doivent être considérées comme des porteurs permanents [53].

3.1.1.1.2.3. L'individu

Le pouvoir pathogène des *Brucella* est aussi en fonction de l'individu. C'est la raison pour laquelle, sur le terrain, on peut observer des extrêmes allant de l'infection aigue typique avec avortement à la résistance totale à l'infection [49].

3.1.1.2. Les étapes de l'infection

Il ya deux phases d'infection, une phase primaire et une phase secondaire.

3.1.1.2.1. Période primaire

Les *Brucella* peuvent pénétrer dans l'organisme par plusieurs portes d'entrées : muqueuses oculaire, nasopharyngée, digestive, génitale, peau érodée. La pénétration semble toutefois se faire principalement par les voies aériennes supérieures chez les animaux d'élevage, chez les bovins La voie d'infection la plus fréquente est le tractus gastro-intestinal [54].

Après pénétration Les bactéries migrent ensuite par voie lymphatique, jusqu'au premier relais ganglionnaire où elles se multiplient. Ce ganglion constitue le foyer primaire, périphérique ou profond (ganglions de la tête, ganglions mésentériques) [30].

Les *Brucella* se multiplient dans les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation, où les bactéries peuvent persister pendant très longtemps. Si les *Brucella* ne sont pas éliminées, il se produit une dissémination, par voie lymphatique et dans une moindre mesure par voie sanguine sous forme intracellulaire dans des neutrophiles et des macrophages, cette bactériémie va 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 [44]. *B. abortus* a un Tropisme fort à l'utérus pendant le dernier trimestre de la gestation, ce qui serait probablement du à une forte concentration en hormones stéroïdes et l'érythritol. Ce dernier favorise la survie bactérienne, car il peut être métabolisé par *B. abortus* comme source de carbone et d'énergie [54].

3.1.1.2.2. Période secondaire

Elle est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement de l'immunité. Deux issues sont possibles soit la guérison ou la persistance des *Brucella*. Les *Brucella* ont donc la capacité de résister à

l'action des mécanismes immunitaires et donc de se maintenir dans certains sites privilégiés, notamment les nœuds lymphatiques, demeurant à l'intérieure des cellules phagocytaires. Leur réactivation est possible à chaque gestation, entraînant un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise bas. Leur multiplication peut être réactivée. Les femelles n'avortent en général qu'une seule fois, bien que les gestations suivantes puissent connaître donc une réinfection avec excrétion dans les produits du part, accompagnant la naissance de produits infectés porteurs latents et futurs excréteurs persistants [44].

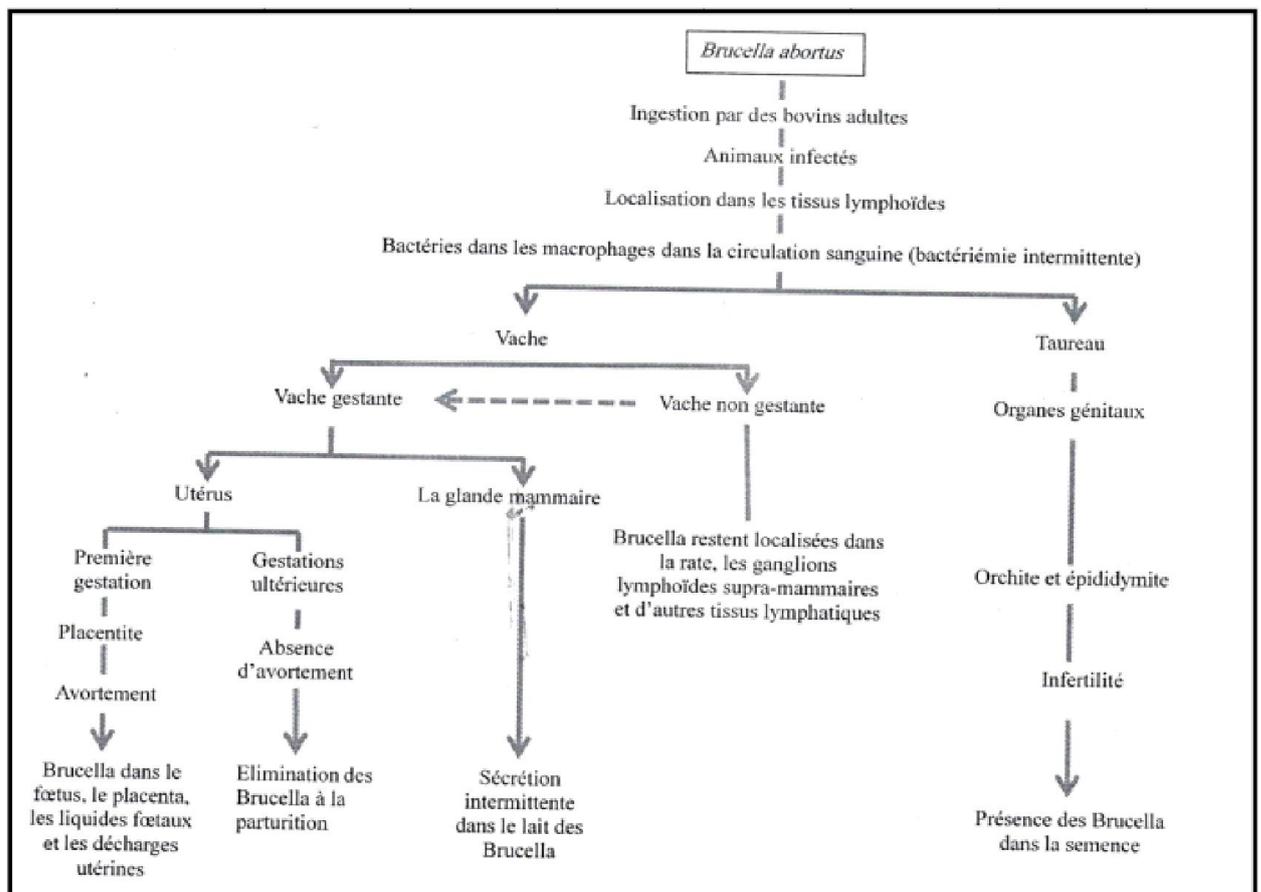


Figure 3.1. : Les étapes de l'infection due à *B.abortus* chez le bovin adulte [55].

3.1.2. La réponse immunitaire

La réponse immunitaire de l'hôte est provoquée par un antigène appelé aussi immunogène. Celui-ci est capable d'induire la synthèse des molécules de reconnaissance, à savoir les anticorps par les lymphocytes B (réponse immunitaire humorale), et des récepteurs sur les lymphocytes (réponse

immunitaire cellulaire). Donc Il existe deux types de réponse immunitaire : humorale et cellulaire, qui est utilisables pour le dépistage des animaux malades. En général, la réaction de l'hôte face à l'infection se traduit en période postpubère par une repense à la fois humorale et cellulaire [49]. Par contre la réponse immunitaire chez les animaux impubères est transitoire et parfois absente [30].

3.1.2.1. Réponse immunitaire humorale

Les antigènes de Brucella qui sont impliqués dans la réponse humorale sont portés par les LPS recouvrant la majeure partie de la bactérie [49], ces derniers provoquent la libération des isotypes immunogènes à des concentrations significatives dans les sérums de bovins qui sont : IgG1, IgG2, IgM et IgA, on peut les trouver aussi à des concentrations différentes dans le lait, le mucus vaginal et le sperme [56].

3.1.2.1.1. La cinétique des anticorps

Chez l'animal pur, les immunoglobulines sont détectables au bout d'un délai moyen variant entre 4 semaines et 6 mois en fonction de la taille, de la voie d'entrée de l'inoculum et du stade de gestation. Les IgM sont les premiers isotypes formés après une forte infection. Ils sont rapidement suivis par les IgG, les IgG1 étant les plus abondants dans le sérum et leur concentration dépassant celle des IgG2. Les deux titres des classes IgM et IgG s'élèvent ensemble pendant le premier mois de la phase aigue de la maladie. Puis, peu à peu les IgG prédominent dans les phases plus tardives de l'infection aigue et subaigüe. Dans la brucellose chronique, les IgM ont disparus, tandis que les IgG persistent et se maintiennent à un taux décelable pendant 2 ou 3 ans [37]. Les concentrations en IgA sont généralement très faibles dans les sérums bovins. Dans les environnements infectés, les animaux exposés à de faibles doses peuvent présenter passagèrement de faibles titres d'anticorps.

Les différentes classes d'anticorps se distinguent par des affinités sérologiques spécifiques comme décrit ci-dessous:

- **Les IgM**, multivalents et précoces, présentent une faible avidité pour les antigènes. Ils agglutinent efficacement les antigènes, mais sont à peu près incapables d'entraîner la précipitation ou de neutraliser les toxines. Ils sont aptes à déclencher la voie du complément lorsqu'ils sont liés à l'antigène.
- **Les IgG**, formés plus tardivement, ont une haute affinité pour les antigènes. Par conséquent, les IgG forment des complexes de précipitation stables avec les antigènes solubles et sont capables de neutraliser les toxines.
- **Les IgA**, ne peuvent fixer le complément par la voie classique. Leur fonction majeure *in vivo* est de bloquer l'adhérence de l'antigène à la surface des organismes [57].

3.1.2.2. La réponse cellulaire

Contrairement à la réponse humorale, la réponse cellulaire est davantage dirigée contre des protéines internes, localisées dans le cytoplasme [49,58]. Les *Brucella* sont des pathogènes intracellulaires facultatifs, Elles sont phagocytées par les macrophages et leucocytes polymorphonucleaires à la suite d'un enchainement de plusieurs étapes. Lors d'infection, on observe une réponse immunitaire de type 1 (différentiation des lymphocytes précurseurs (Tp) en lymphocytes de type 1 (T1) qui est caractérisée par la production d'IFN- γ , d'IL-2 et d'IgG2a, ces lymphocytes T1 comprennent à la fois des lymphocytes CD4+ (ou Th 1 pour « helper ») et des lymphocytes CD8+ (ou Tc pour « cytotoxique ») qui sont importantes dans le contrôle d'une infection par *Brucella*. [59] L'IFN- γ , produit par les lymphocytes Th1 et Tc, joue également un rôle crucial dans le contrôle de l'infection par *Brucella car* stimule les macrophages en augmentant leur potentiel bactéricide (production de radicaux libres et de TNF- α et il induit le changement isotypique caractéristique d'une réponse de type 1 (la production d'IgM est remplacée par la production d'IgG2a et d'IgG3). Ces deux classes d'anticorps sont de très bons activateurs du complément et présentent une forte affinité pour les récepteurs Fc, ce qui facilite la phagocytose de *Brucella* opsonisée [60].

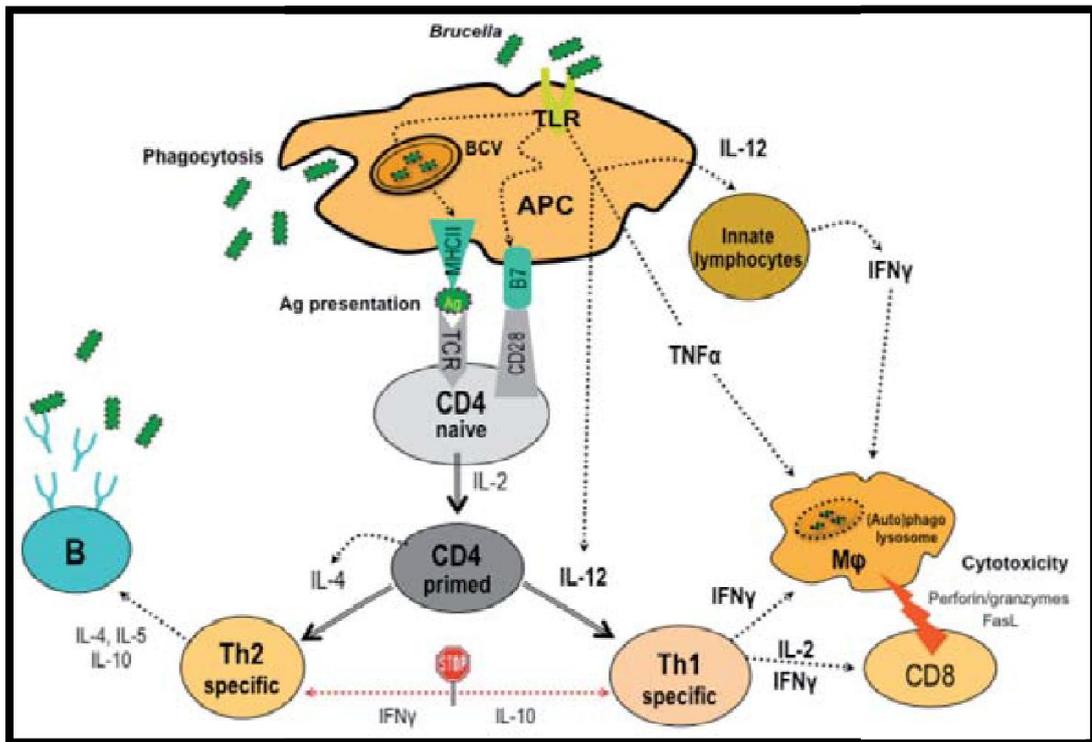


Figure 3.2. : Mécanismes cellulaires impliqués dans la réponse immunitaire contre les *Brucella* [61].

3.1.1. Symptômes

L'incubation de la brucellose est très variable, les symptômes sont inconstants et dépendent du statut immunitaire du troupeau [52]. On note des atteintes génitales et extra-génitales.

3.1.1.1. Atteintes génitales

3.1.1.1.1. Chez la femelle

La maladie est généralement asymptomatique chez les femelles non gravides, les symptômes les plus courants concernent l'appareil génital. En effet, le premier signe chez la femelle est l'avortement Figure 3.3. [43], 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 bas n'est prématurée que de quelques jours, mais les lésions d'hypoxie sont souvent trop

graves pour permettre la survie du jeune veau. Le pourcentage d'avortement est compris entre 50 et 70 % dans un troupeau n'ayant jamais été en contact avec l'agent pathogène ; la rétention placentaire est fréquente après l'avortement. La production laitière peut chuter de 25 %, il n'y a pas de mammite apparente et le pis est normal à la palpation [43]. Les *Brucella* se localisent souvent (80 % des animaux infectés) [62] dans les nœuds lymphatiques supra-mammaires et les glandes mammaires. Des lésions d'endométrite peuvent ensuite être responsables d'infécondité temporaire.



Figure 3.3 : Avortement d'un veau due à infection par *Brucella abortus* biovar 1 [44].

3.1.1. 1.2. Chez le male

Chez le male, l'infection se localise fréquemment dans l'appareil génital, engendrant des orchites et épидидymites. Une ou les deux bourses vont être affectées et présente une hypertrophie (deux fois la taille normale) extrêmement douloureuse. Les testicules subissent ensuite une abcédation et une nécrose conduisant parfois jusqu'à leur destruction. Les vésicules séminales peuvent aussi être affectées et leur hypertrophie, due à une forte inflammation, peut être détectée par palpation transrectale. Les males infectés sont généralement stériles lorsque l'orchite est aiguë, mais conservent une fertilité normale si seul l'un des deux testicules est touché [27]. Ces animaux présentent un danger potentiel lorsqu'ils sont utilisés pour l'insémination artificielle [50].

3.1.1.2. Atteintes extra-génitales

Parmi les symptômes extra-génitaux on note des arthrites progressives érosives et non suppuratives des articulations ont été décelées chez certains animaux. On peut alors détecter des antigènes dans le liquide synovial et les tissus articulaires. Ces arthrites touchent particulièrement le grasset, le jarret, et parfois le genou et l'articulation coxo-fémorale [62], ainsi que des hygromas uni ou bilatéraux, que l'on observe même chez des vaches n'ayant jamais avorté, on rencontre aussi de l'inflammation des gaines tendineuses et de la bursite, le plus souvent dans les bourses pré patellaires, ainsi que la formation d'abcès dans le tissu conjonctif sous cutané.

3.1.4. Lésions

3.1.4.1. Lésions macroscopiques

Seules les altérations histopathologiques sont assez spécifiques, mais elles sont variables et inconstantes dans les organes. Une lymphadénite locale est systématique, avec hyperplasie lymphoïde, accompagnée d'une infiltration importante de cellules mononuclées et de quelques granulocytes neutrophiles et éosinophiles.

Sur l'utérus, on peut observer une endométrite, évoluant de la forme aiguë vers la forme chronique. Un exsudat gris sale, consistant ou visqueux, y est en quantité variable, chargé de flocons purulents plus ou moins gros. Les cotylédons de la matrice sont nécrotiques, gris jaunâtres, et recouverts d'un exsudat collant, sans odeur et brunâtre. Quant au placenta inter cotylédonaire, il est peu altéré : épaissi par endroits, il peut être œdémateux, et recouvert d'exsudat.

Chez l'avorton, un œdème sous cutané important se développe, les cavités splanchniques sont remplies d'un exsudat séro-sanguinolent, et on observe parfois des lésions de pleuropneumonie. Au niveau du pis, il n'y a pas de lésions macroscopiques, mais les nœuds lymphatiques supramammaires sont hypertrophiés.

Les testicules d'un mâle infecté présentent des lésions de nécrose multifocales ou diffuses dans le parenchyme testiculaire et l'épididyme. Dans les cas chroniques, ces lésions sont granulomateuses.

Enfin, les cas d'hygromas s'observent généralement au carpe, et ils contiennent une grande quantité de germes [64].

3.1.4.2. Lésions microscopiques

Les figures montrées ci-dessous, sont des coupes histopathologique des vaches, et des veaux prématurés et avortés infectés expérimentalement avec *B.abortus* [65].

A. Une coupe histologique au niveau d'un placentome montrant des cryptes caronculaires remplis de débris nécrotiques, hémorragie multifocale, inflammation intense infiltrée, et plusieurs colonies bactériennes (placentite nécrosante aiguë). HE. En médaillon: colonies de *B. abortus* immunomarquées. IHC. Bar, 167 mm (Figure 3.4).

B. Une coupe histologique au niveau de la glande mammaire avec une infiltration interstitielle locale des lymphocytes, macrophages et des neutrophiles dans une lumière acineuses. HE. En médaillon: immunomarquées *B. abortus* principalement associée à macrophages. IHC. Bar, 50 mm.(Figure 3.5).

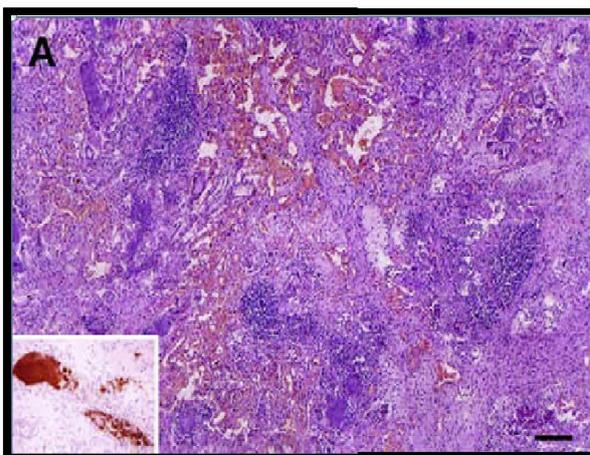


Figure 3.4 : (A)

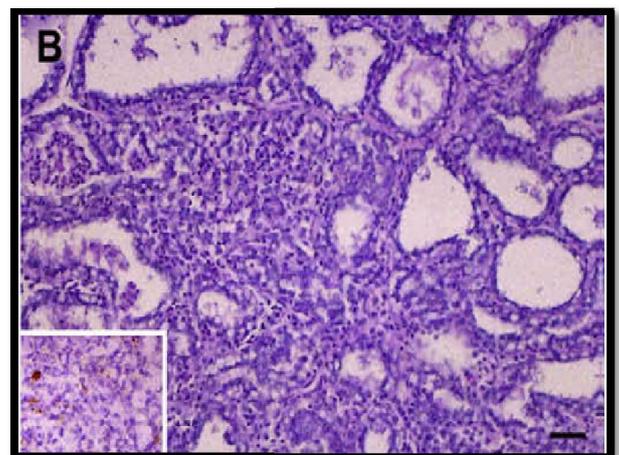


Figure 3.5: (B)

C. Une coupe histologique au niveau de l'endomètre avec une vaste zone d'érosion épithéliale, et des accumulations de fibrine, les débris cellulaires, et des colonies bactériennes. HE. Bar, 250 mm. (Figure 3.6).

D. Une coupe histologique au niveau d'une artériole d'endomètre avec une peinture murale et inflammatoire péri vasculaire infiltrée, et une dégénérescence fibrinoïde (vascularite). HE. Bar, 100 mm.(Figure 3.7).

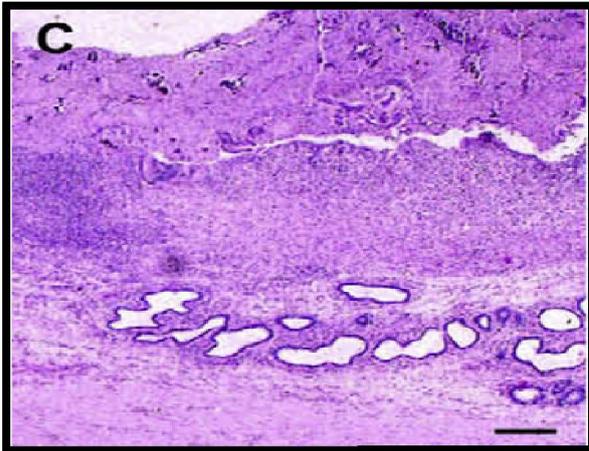


Figure 3.6: (C)

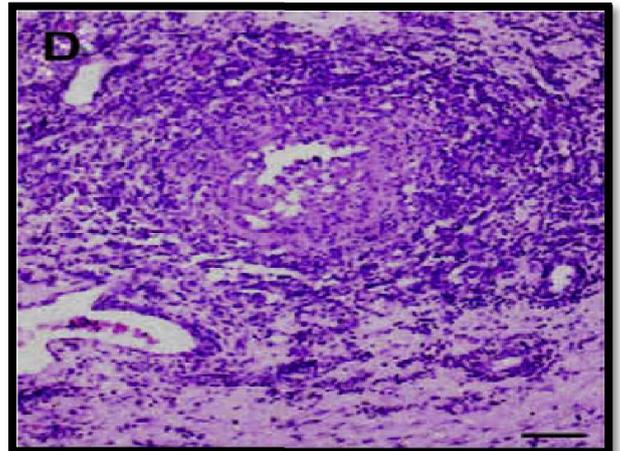


Figure 3.7: (D)

E. Coupe histologique d'un ganglion mammaire avec sinus médullaires rempli de macrophages et des neutrophiles (lymphadénite suppurative). HE. Bar, 33,5 mm.

F. Coupe histologique d'un fœtus avorté : la plèvre viscérale fortement épaissi et une accumulation de fibrine et un infiltrat inflammatoire diffuse (pleurésie fibrineuse). HE. Bar, 100 mm. (Figure 3.9).

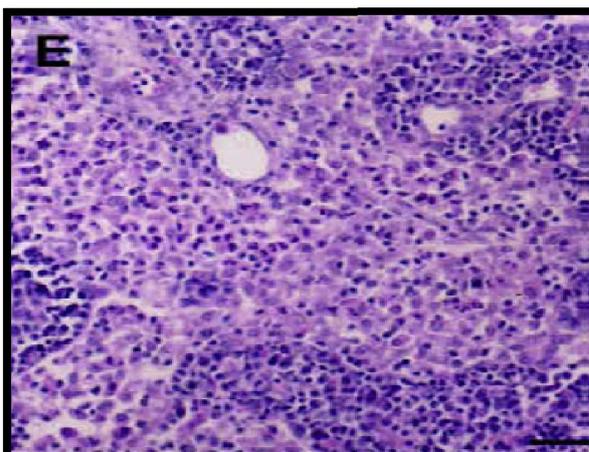


Figure 3.8: (E)

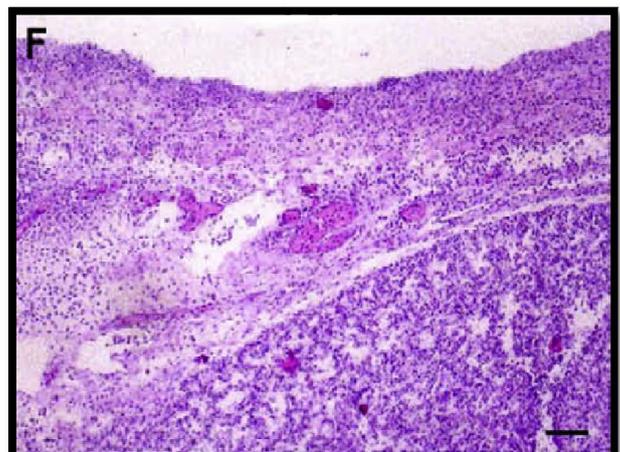


Figure 3.9: (F)

G. Faible veau prématurée: poumon montrant parois alvéolaires diffuse épaissies avec infiltrat inflammatoire interstitielle (pneumonie interstitielle). HE. Bar, 33,5 mm.

H. Veau prématurée faible : bronchiole avec une grande quantité d'exsudat fibrineux dans la lumière et un foyer inflammatoire s'infiltrer dans le parenchyme adjacent (bronchopneumonie). HE. Bar, 80 mm [64].

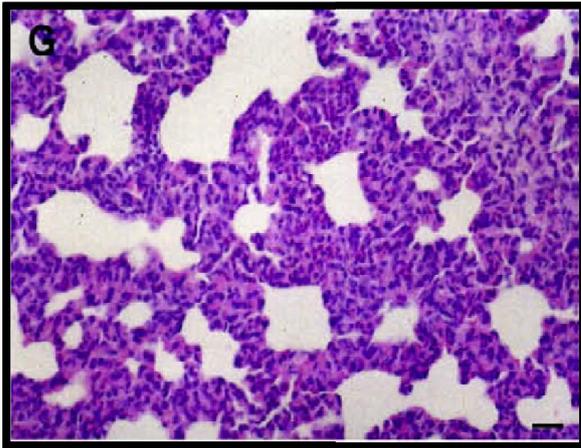


Figure 3.10: (G)

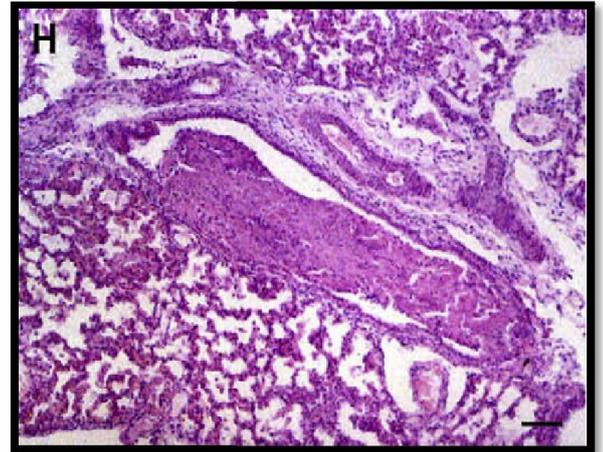


Figure 3.11: (H)

3.1.5. Diagnostic

3.1.5.1. Diagnostic épidémiologique

Il est difficile à réaliser car les symptômes de la brucellose sont tardifs et peu spécifiques. En effet, après une longue période asymptomatique, la maladie est subclinique chez la plupart des animaux [63]. Un avortement isolé ou en série chez la femelle, mort d'un veau en anoxie dans les 48h après la mise bas, une orchite ou une épидидymite chez le male doivent faire penser à la brucellose. D'autres éléments de suspicion peuvent être des arthrites, hygromas, rétentions placentaires, métrites ou mammites, troubles de la reproduction. Le diagnostic de laboratoire est donc toujours nécessaire, par isolement de la bactérie ou mise en évidence d'anticorps dans le sérum [65].

3.1.5.2. Diagnostic expérimental

Les prélèvements les plus souvent utilisés pour le diagnostic de laboratoire sont : des calottes placentaires, du liquide utérin, l'avorton lors d'un avortement, ou du sang. On utilise aussi parfois du colostrum, du sperme, des sécrétions vaginales, ou du tissu et des nœuds lymphatiques. Le dépistage est possible à partir de sang sur tube sec ou de lait de mélange récolté dans le tank.

3.1.5.2.1. Diagnostic directe

3.1.5.2.1.1. 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 : des cotylédons issus du placenta, des excréments vaginales, ou du poumon, foie et contenu abomasal du fœtus. Ces prélèvements doivent être fixés avec la chaleur ou l'éthanol avant d'être colorés par les méthodes de Stamp, Köster, ou Macchiavello [64]. 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 Burnetti*, *Chlamydophila 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. Cependant, ces méthodes de coloration ont une faible sensibilité lorsqu'elles sont réalisées sur le lait ou les produits laitiers, où les *Brucella* sont souvent présentes en nombre faible où l'interprétation est rendue difficile par la présence de globules gras. Toute coloration, positive ou non, doit donc être confirmée par une mise en culture [42].

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 « Serum 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 antibiotiques à un milieu de culture classique. Un enrichissement peut être pratiqué lorsque la culture est réalisée à 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 à contours réguliers. Ces colonies deviennent avec le temps plus grosses et plus foncées [66].

L'identification d'espèce et le biotypage peuvent être réalisés grâce à des techniques de phago-lyse et sur culture bactérienne, à partir de critères biochimiques et sérologiques. Une technique de PCR récemment 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 [67].

3.1.5.2.1.2. Diagnostic moléculaire

Depuis quelques années, l'utilisation de la technique de PCR en temps réel dans le diagnostic de la brucellose se multiplie [68]. En 1990, le premier diagnostic direct par PCR pour la détection du genre *Brucella* a été mis au point, basé sur le gène *omp43* de *B. abortus* S19 [69]. Plusieurs auteurs démontrent que le test est spécifique pour les échantillons cliniques [69,70].

En 1992, une nouvelle PCR basée sur le gène *bcsp31* codant une protéine de surface de 31 kDa (BCSP31 pour *Brucella* Cell Surface Protein) est testée par Baily et collaborateurs [71].

La PCR en temps réel, qui a l'avantage de présenter une meilleure spécificité qu'une PCR conventionnelle grâce à l'utilisation d'une sonde, est maintenant très utilisée pour la détection du genre *Brucella* [72].

Par ailleurs, O'Leary *et al.* révèlent l'avantage de l'emploi de la PCR en temps réel sur des échantillons de sang, du lait et des nœuds lymphatiques de vaches

naturellement infectées comparativement aux méthodes sérologiques et bactériologiques standard [42].

3.1.5.2.2. Diagnostic Indirecte

3.1.5.2.2.1. 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 *Brucella 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* O : 9, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O : 157, *Salmonella urbana* et *Pseudomonas maltophilia*). 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 [73].

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux définis par l'Office International des Epizooties (OIE), et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits. L'épreuve sérologique idéale doit établir un diagnostic précoce, identifier les infectés chroniques et différencier les anticorps de vaccination de ceux d'infection. Elle doit, pour cela être économique, simple et rapide à effectuer puisqu'elle vise un très grand nombre de prélèvements. Aucune épreuve sérologique ne possède toutes ces qualités [74]. Il existe dans la littérature de très nombreux tests de diagnostic, plus ou moins fiables, mais compliqués. Nous détaillerons les plus classiques, épreuve à l'antigène tamponné (test au Rose-Bengale), séroagglutination de Wright, fixation du complément, ring-test, ELISA Fluorescence Polarisation Assay.

3.1.5.2.1.2.1. Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) = Test Rose Bengale

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella 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 l'Office

International des Epizooties, l'antigène pour le test au Rose Bengale est préparé en récupérant par centrifugation des souches 99 de *Brucella 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 7 mL 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 [75].

Ce test permet le diagnostic sérologique des *brucella* (*melitensis*, *suis*, *abortus*) sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 ±0,05), il révèle les anticorps IgG1 et les IgM. 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.

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'agglutinants visibles à l'œil nu. S'il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le mélange reste homogène [74].

3.1.5.2.1.2.2. Séro-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. Ce test permet de détecter les anticorps IgG2 et IgM [76]. 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.

3.1.5.2.1.2.3. La fixation du complément (FC)

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. Elle est utilisée comme test de base chez certains pays, par exemple Malaysia et Nouvelle-Zélande, et comme test complémentaire pratiquement partout ailleurs. Détectant les anticorps des classes IgG1 et IgM, ce test est considéré comme le plus sensible et le plus précis, permettant une distinction relative entre anticorps vaccinaux et infectieux [77,78]. La FC présente l'inconvénient d'être délicate et longue à exécuter et nécessitant le travail d'un technicien entraîne, ce qui ne permet malheureusement pas souvent son utilisation comme épreuve de base [76].

3.1.5.2.1.2.4. Le test de l'anneau ou ring test (RT)

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. L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), et colorée à l'hématoxyline.

En cas d'infection, le complexe antigène-anticorps est entraîné à la surface du lait par les globules graisseux de la crème, formant alors un anneau pourpre. En l'absence d'infection, l'antigène coloré est réparti également dans tout le mélange, donnant à ce dernier une couleur homogène [51,79]. Il est largement utilisé. Il détecte les immunoglobulines du lait, soit provenant du sang par filtration (IgM), soit produites localement dans la mamelle (IgA), organe qui compte parmi les plus fréquemment infectés. Très efficace [80,81], c'est une épreuve facile à réaliser et économique. Le RT peut être réalisé à grande fréquence (mensuelle) aussi bien pour le dépistage des troupeaux laitiers infectés. Le RT peut être utilisé au niveau individuel permet alors de rechercher les vaches responsables de la positivité du RT de mélange [74].

3.1.5.2.1.2.5. ELISA (Enzyme Like Immuno Sorbent Assay)

L'ELISA de compétition est très spécifique, et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux du vaccin S19 [75]. On l'utilise donc pour la confirmation sur des animaux vaccinés. Pour la réalisation de ce test, le LPS de *Brucella* est fourni fixé 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 fixés 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 [82].

Le seuil de positivité est fixé à partir d'un échantillon de contrôle positif à introduire sur chaque microplaque. L'ELISA indirecte est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés et est plutôt utilisé en dépistage [75].

Tableau 3.1 : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique [63].

Test	Sensibilité	Spécificité	Immuno-globulines détectées	Distinction vaccinés/ malades	Coût	Faisabilité
EAT	+++ selon situation épidémiologique	+++	IgM IgG1 IgG2	NON	Faible	Facile : peut se faire sur le terrain
Ring Test	+++ selon la taille du 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	+++	+++	IgG	NON	Faible	Plus compliqué que EAT pour résultats équivalents
ELISA indirecte	++++	+++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Difficile
ELISA de compétition	+++	++++	IgG1 IgG2	OUI	Elevé	Difficile
FPA	+++	++++		OUI	Moyen	Facile, faisable sur le terrain, mais nécessite matériel spécifique

3.1.5.2.1.2.6. Épreuve cutanée allergique à la brucelline

L'épreuve cutanée allergique à la brucelline est une épreuve immunologique alternative, utilisable pour le dépistage des troupeaux non vaccinés, pourvu qu'un allergène purifié (sans trace de LPS-S) et standardisé (tel que la Brucelline-INRA) soit utilisé.

L'épreuve cutanée allergique à la brucelline dispose d'une spécificité très élevée qui permet de considérer comme infecté tout bovin non vacciné et séronégatif mais ayant réagi à l'épreuve cutanée allergique [83,84]. Aussi, cette épreuve est-

elle d'une grande aide pour l'interprétation des réactions sérologiques positives supposées être des RSFP liées à des bactéries croisant au plan antigénique, en zone indemne tout particulièrement [85,86].

Cependant, certains animaux infectés ne présentent pas de réaction positive, ce qui conduit à ne pas recommander cette épreuve comme épreuve unique de diagnostic ou pour le contrôle aux échanges internationaux.

CHAPITRE 04

EPIDEMIOLOGIE ET PROPHYLAXIE

4.1. Introduction

Très peu de pays échappent à la maladie et ceux qui paraissent indemnes sont en réalité le plus souvent ceux où la maladie n'a pas été recherchée, exception étant faite pour les rares pays où une éradication stricte et bien conduite a éliminé la brucellose.

4.1.1. Etude épidémiologique

4.1.1. 1. Epidémiologie descriptive

4.1.1. 1.1. Répartition géographique dans le monde

On ne connaît pratiquement pas d'espèce animale résistante à l'infection par *Brucella* et c'est évidemment la raison de la dispersion mondiale de la maladie [37]. La brucellose bovine est le type même des maladies de l'élevage sévissant à l'échelle mondiale [87]. De très nombreux pays sont encore concernés par la brucellose bovine, avec une prévalence et une incidence variable selon les régions. En effet la situation zoonitaire internationale relative à la brucellose bovine évolue continuellement du fait des échanges mondiaux et de l'évolution des programmes de surveillance nationaux [43].

L'incidence la plus élevée est constatée au Moyen-Orient, dans la région de la Méditerranée, en Afrique subsaharienne, en Chine, en Inde, au Pérou et au Mexique. Actuellement, les pays d'Asie centrale et d'Asie du Sud-est enregistrent la plus forte augmentation du nombre de cas. Plusieurs pays d'Europe occidentale, le Canada, le Japon, l'Australie et la Nouvelle-Zélande semblent être indemnes de la brucellose [88]. La répartition des principales espèces de *Brucella* et de leurs biotypes n'est cependant pas toujours spécifique à des aires géographiques bien définies. Dans la plupart des régions du monde, les trois principales espèces de *Brucella* sont retrouvées. *B. abortus* prédomine nettement en Afrique (excepté l'Afrique du Nord), bien que *B. melitensis* soit également présente. En Europe, c'est également *B. abortus* qui est majoritaire, excepté dans

les pays méditerranéens, tandis que l'Europe centrale est marquée par la présence de *B. suis*.

Tous les pays méditerranéens, africains, asiatiques et européens sont infectés essentiellement par *B. melitensis*. C'est encore *B. abortus* omniprésente et en force aux côtés des autres espèces en Asie et en Amérique du Sud. *B. suis* représente le fléau principal en Amérique du Nord. Il faut enfin souligner que beaucoup d'inconnues subsistent dans plusieurs pays où la brucellose a été décelée par des méthodes sérologiques sans qu'on puisse encore savoir quelles sont les espèces de *Brucella* responsables [89].

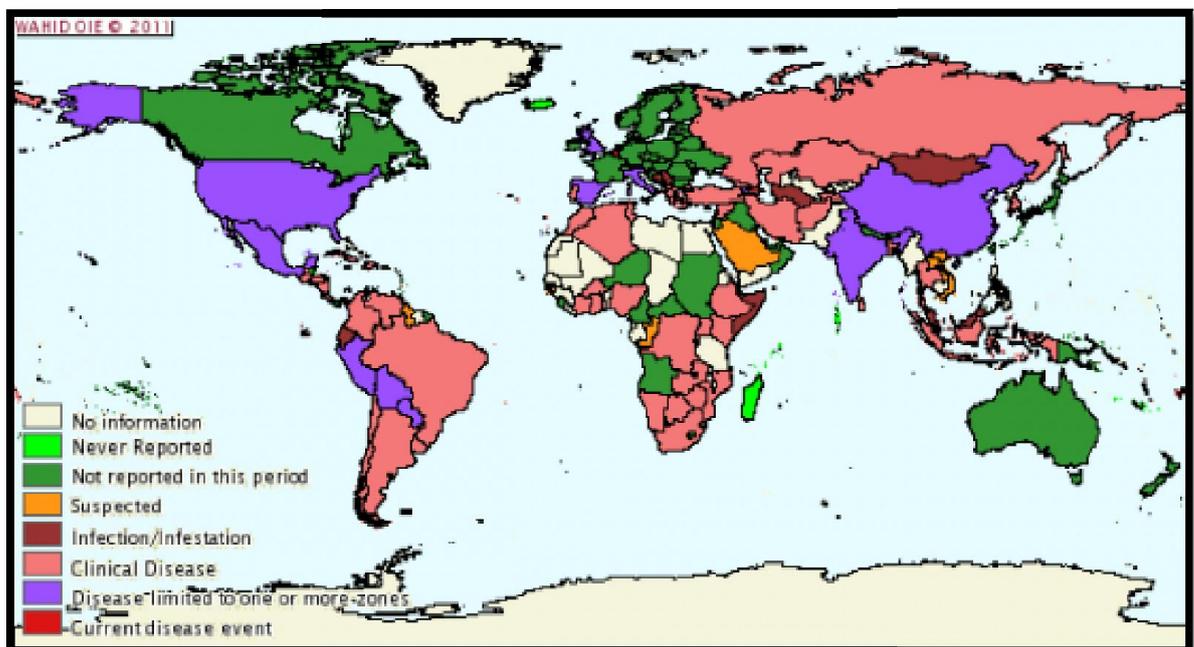


Figure 4.1 : Répartition géographique de *Brucella abortus* chez les animaux domestiques et sauvages entre juillet et décembre 2010 [90].

4.1.1.1.2. Les espèces animales affectées

Les espèces affectés par *Brucella 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 *Brucella abortus* présente une infection chronique des bourses séreuses du cou et du garrot. Les ovins, caprins et porcins sont peu sensibles à *Brucella abortus*. L'infection des bovins par *Brucella melitensis* provoque une maladie identique [63].

4.1.1. 2. Epidémiologie analytique

4.1.1. 2.1. 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 [91].

4.1.1. 2.2. Les matières virulentes

- **Chez la femelle** Les matières 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. Et 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) [63].
- **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) [63].

4.1.1.2.3. Mode de transmission il existe deux types de transmission, verticale et horizontale :

- **Transmission verticale** : peut être 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 [87].
- **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 [92].

4.1.1. 2.4. Voies de pénétrations

- **la voie cutanée ou conjonctivale** : La brucellose peut être transmise par pénétration à travers la peau (intacte ou avec excoriations), la conjonctive. Par exemple, la queue d'une vache hautement infectée peut être contaminante si elle entre en contact avec la conjonctive ou la peau d'une autre vache [52].

- **La voie orale**: lors de l'allaitement peut permettre la transmission de l'infection au veau. La consommation d'herbe de natures infectées, d'eau est aussi à l'origine d'une contamination [5].

- **La voie vénérienne** : Les taureaux sont parfois à l'origine d'une dissémination des *Brucella* par leur semence, mais ils ne transmettent pas l'infection à des vaches infectées aux vaches non infectées. En revanche, le risque est plus important lors d'insémination artificielle de semence contaminée.

- **Les voies respiratoires supérieures** : par formation d'aérosols de bactéries [51].

- **La mamelle** : de nombreuses formes de mammites brucelliques sont dues

à la contamination lors de la traite d'un animal sain à partir du lait d'un animal infecté. Ce mode de contamination a toutefois peu d'impact sur l'avortement brucellique [56].

4.1.1. 2.5. Facteurs de sensibilité et réceptivité

On note plusieurs facteurs de sensibilité et de réceptivité parmi lesquelles on a la gestation, un facteur important 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 [63].

4.1.1. 3. Epidémiologie synthétique

La contamination des cheptels indemnes se fait surtout par la transhumance, les échanges commerciaux, l'introduction d'un animal infecté inapparent, les contaminations de voisinage, le prêt des mâles pour la reproduction, la conservation de jeunes femelles nées de mère infectée, les autres espèces animales, le séjour des animaux dans des pâtures contaminées [93.94].

4.1.1. 3.1. Évolution dans l'effectif

En milieu initialement indemne, les avortements sont nombreux la première année (50-90% des femelles), puis plus rares l'année suivante, et disparaissent ensuite. Mais l'infection persiste et les avortements réapparaissent au bout de quelques années, avec l'augmentation du nombre d'animaux sensibles. Certains troubles (arthrites, hygroma, ...) témoignent par ailleurs d'une évolution chronique. Elle s'incruste et persiste à l'état enzootique, d'où un aspect cyclique de la maladie.

Dans les régions anciennement infectées, on observe une brucellose latente sans symptômes, ou avec des avortements isolés ou en petites flambées

cycliques. Généralement, des cycles d'avortements ont lieu tous les 4-5 ans dans le troupeau, lors d'introduction de jeunes femelles primipares (car les femelles n'avortent qu'une fois) [16.95].

4.1.2. Prophylaxie

La meilleure façon pour faire une prophylaxie collective de la brucellose humaine correspond au contrôle de l'infection chez les animaux d'élevage, principalement des bovins, ovins et caprins. Pour réussir ce contrôle il faut accompagner à la fois une prophylaxie sanitaire (dépistage et abattage des animaux infectés) et sanitaire (vaccination).

4.1.2.1. Prophylaxie sanitaire

Elle consiste en un assainissement des cheptels bovins infectés et une protection des cheptels indemnes.

4.1.2.1.1. Dans les milieux infectés

L'application stricte de l'ensemble de ces mesures doit être maintenue pendant la durée nécessaire à l'assainissement. Un cheptel peut être considéré assaini lorsque tous les animaux (de 12 mois ou plus) ont présenté des résultats favorables à au moins deux contrôles sérologiques espacés de 3 à 6 mois.

Pour l'assainissement d'un cheptel :

- Dépistage des animaux infectés (malades et infectés inapparents), leur isolement et leur élimination rapide vers la boucherie. Des contrôles répétés sont nécessaires. Lorsque le cheptel est trop infecté, il est préférable de prévoir son élimination totale.
- Tous les animaux âgés de plus d'un an font l'objet d'une épreuve sérologique. Tout animal positif est abattu et le troupeau réexaminé 30 à 60 jours plus tard. Si aucun animal ne réagit le troupeau est réexaminé à nouveau au bout de 6 mois.

- L'épreuve de rose Bengale est recommandée par le comité des experts FAO/OMS pour le dépistage, et les sérums positifs étant retestés par fixation du complément.
- Les animaux séropositifs seront éloignés du troupeau aussi rapidement que possible et abattus.
- La vente de femelles de plus d'un an provenant d'un troupeau infecté devra être interdite
- Contrôle de toutes les espèces réceptives (par exemple, dans une exploitation bovine, les chiens et les petits ruminants) et les éliminer s'ils sont reconnus brucelliques.
- Rôle de la transmission vénérienne : utiliser l'insémination artificielle.

4.1.2.1.2. Dans les milieux infectés

Pour garder un milieu indemne il est recommandé suivre les directives suivantes:

- Introduction de bovins certifiés indemnes, avec quarantaine et contrôle individuel par sérologie.
- Maintien du cheptel à l'abri des contaminations de voisinage sans oublier l'importance de l'hygiène de la reproduction (monte publique ou insémination artificielle).
- Désinfection périodique des locaux, l'isolement des parturientes et destruction des placentas.
- Un Contrôle régulier des cheptels est très important pour la suivie continue de l'état de santé des animaux. [95,43].

Dans tous les cas, pour une prophylaxie sanitaire efficace, il faut utiliser une méthode de dépistage basée sur la mise en évidence indirecte de l'infection sachant la maladie reste asymptomatique pendant longtemps.

4.1.3. Prophylaxie médicale

La vaccination est recommandée par l'Office International des Epizooties pour le contrôle de la brucellose dans les zones où la prévalence de l'enzootie est élevée. Le vaccin S19 est le vaccin de choix pour les bovins car il protège durant

toute la durée de vie utile de l'animal, et il est peu onéreux. Ils ont estimés que 65% à 80% des animaux vaccinés bénéficient d'une protection durable contre l'infection. De plus, le vaccin a un puissant effet anti-abortif, il diminue de ce fait une des principales sources d'infection, à savoir les foetus. Le principal objectif d'un tel programme est de réduire le taux d'infection et de faire en sorte que les troupeaux soient résistants à la brucellose, pour que l'éradication de la maladie puisse ensuite être entreprise [75]. Deux vaccins sont préconisés chez les bovins Le vaccin S19 et Le vaccin RB51.

4.1.2.1. Le vaccin S19

C'est le vaccin 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*. 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 porté par le LPS de la membrane externe), avec des anticorps résiduels dans le lait et le sérum faussant ainsi le dépistage. Très infectieux pour l'Homme il peut entraîner des avortements chez les vaches.

Ce dernier peut être injecté par voie sous cutanée à la dose de 50-80 milliards de bactéries vivantes. Il induit alors une réaction positive aux tests sérologiques, d'autant plus durable que la vaccination se fait tard. Il provoque également des avortements quand il est administré à une vache en gestation, mais ceci reste rare (moins de 1% des cas). Enfin, dans 2% des cas, il y a des infections vaccinales persistantes chez la vache laitière, avec excrétion de souches vaccinales dans le lait (ou dans le sperme pour le taureau) pendant trois mois après le vaccin.

L'usage de ce vaccin à cette dose est donc réservé aux femelles de 3 à 6 mois, chez lesquelles il induit parfois des arthropathies, particulièrement à l'articulation fémoro-tibial. En réalité, la persistance des anticorps vaccinaux dépend plus de l'âge et de la dose de vaccin que de la voie d'administration. Lorsqu'on l'injecte à dose réduite, il y a moins d'interférences avec les tests sérologiques [96].

On utilise aussi la voie conjonctivale pour les animaux de tout âges, avec deux administrations de 5-9 milliards de bactéries vivantes, à six mois d'intervalle : la première à 6-10 mois, en sous cutané ou conjonctivale, et la deuxième à 10-16 mois, toujours en conjonctivale [97].

En résumé, les bactéries se comportent comme une souche atténuée lorsqu'elles sont administrées à des bovins non pubères. Cependant, dans de rares cas, il peut se produire des infections locales du tractus génital. Ce vaccin est donc sans danger pour la plupart des animaux si administré aux veaux entre 3 et 8 mois. Chez les adultes, il faudra utiliser des doses réduites. La durée précise de la protection est inconnue. La protection contre *Brucella melitensis* est peu évidente [27].

4.1.2.2. Le vaccin RB51

Il est devenu le vaccin officiel pour la prévention de la brucellose bovine dans plusieurs pays. Chaque pays utilise cependant des protocoles de vaccination différents [75].

La souche vaccinale RB51 est la souche rugueuse mutante 2308 de *Brucella abortus*, elle a remplacé le vaccin S19 en 1996. Le vaccin RB51 est utilisé en 49 pays, il a été développé par passage en série en milieu sélectif, il est moins virulent que S19. RB51 protège les souris, les ovins et les bovins lors d'injection expérimentale de *Brucella abortus* [98]. 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. Il permet une immunité à durée inconnue [96].

4.1.4. Stratégies de contrôle de la brucellose

Diverses stratégies doivent être adoptées, séparément ou conjointement pour le contrôle puis l'éradication des brucelloses animales. Ainsi, trois possibilités sont recommandées :

- La vaccination généralisée de toute la population animale réceptive ;
- Une combinaison de l'abattage des animaux reconnus atteints (*dépistage/abattage*) et de la vaccination sélective limitée à un groupe d'âge (jeunes) donné ou à une zone du pays, en fonction du niveau de prévalence.
- Prophylaxie exclusivement sanitaire (dépistage et abattage avec indemnités, des animaux reconnus infectés ou exposés) lorsque le taux de prévalence est inférieur à 1% [43, 41,17].

Le choix d'une stratégie de lutte dépend d'un certain nombre de considérations dont, la prévalence de la maladie chez les différentes espèces animales et chez l'homme au moment du démarrage du programme ; la structure de l'élevage et son mode de conduite ; la capacité des Services vétérinaires à assurer le suivi permanent de l'état de la maladie et à contrôler les mouvements de bétail ; la prise de conscience ou non, par les décideurs politiques, de la nécessité d'un programme de lutte ininterrompu et mené sur de nombreuses années, voire plusieurs décennies ; les ressources financières disponibles et la capacité de mobilisation de ressources supplémentaires ; la coordination et la collaboration entre le ministère de la Santé et celui de l'Agriculture dans le développement d'une stratégie, l'échange d'information et la mobilisation des ressources et enfin, la participation la plus large possible de la communauté des éleveurs, qui doivent être convaincus, avant le lancement d'un programme de lutte contre la maladie, de l'intérêt de cette entreprise [17] .

CHAPITRE 05

ETUDE I : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE RETROSPECTIVE DE LA BRUCELLOSE HUMAINE

5.1. Introduction

De part sa répartition mondiale, la brucellose prédomine dans le bassin méditerranéen, l'Asie de l'ouest, le Moyen-Orient, l'Amérique du sud, l'Amérique centrale et l'Afrique noire [99].

L'OMS estime l'incidence mondiale de la maladie à 500.000 cas par an. Elle est considérée comme étant la zoonose bactérienne la plus fréquente dans le monde, avec plus d'un demi-million de nouveaux cas estimés chaque année ainsi que l'une des plus préoccupantes du bassin méditerranéen [100].

En Algérie la brucellose humaine est classée en 2eme position dans les maladies zoonotiques à déclaration obligatoire avec un pourcentage de 34% ; après la leishmaniose cutanée plus importante avec un pourcentage de 62,80% [101].

L'objectif de cette étude se résume à effectuer une analyse épidémiologique rétrospective des cas de brucellose humaine enregistrés au niveau de la Direction de la Santé et de la Population (DSP) de la Wilaya de Médéa sur une période de dix ans (de janvier 2004 à décembre 2014).

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Récolte des données

- Pour la récolte des données concernant les cas de brucellose humaine enregistrés durant ces dix dernières années dans les 64 communes de la Wilaya de Médéa; nous nous sommes adressés à la Direction de la Santé et de la Population (DSP) qui nous a fourni les données suivantes:
 - Le nombre de cas humains atteints de maladies zoonotiques dont la brucellose (Appendice B).
 - Les données épidémiologiques des cas humains atteints de brucellose à savoir : l'âge ; le sexe ; la date de déclaration et l'origine géographique de la population durant les 10 années (Appendice C).

5.3. Résultats

5.3.1. Evolution des zoonoses

5.3.1.1. Evolution dans le temps

L'évolution des principales zoonoses enregistrées par la DSP de la Wilaya de Médéa à savoir le kyste hydatique, les leishmanioses viscérale et cutanée, la brucellose et enfin la rage, présente des fluctuations en dents de scie observées durant les dix années choisies. Ces fluctuations se manifestent dans le cadre de notre étude parfois par une augmentation, et parfois par une diminution et même par une stabilité de cas recensés. Il est nécessaire de mentionner que le taux d'incidence le plus élevé, toutes pathologies confondues, a été enregistré en 2005 avec 2020 cas recensés (Tableau 5.1.).

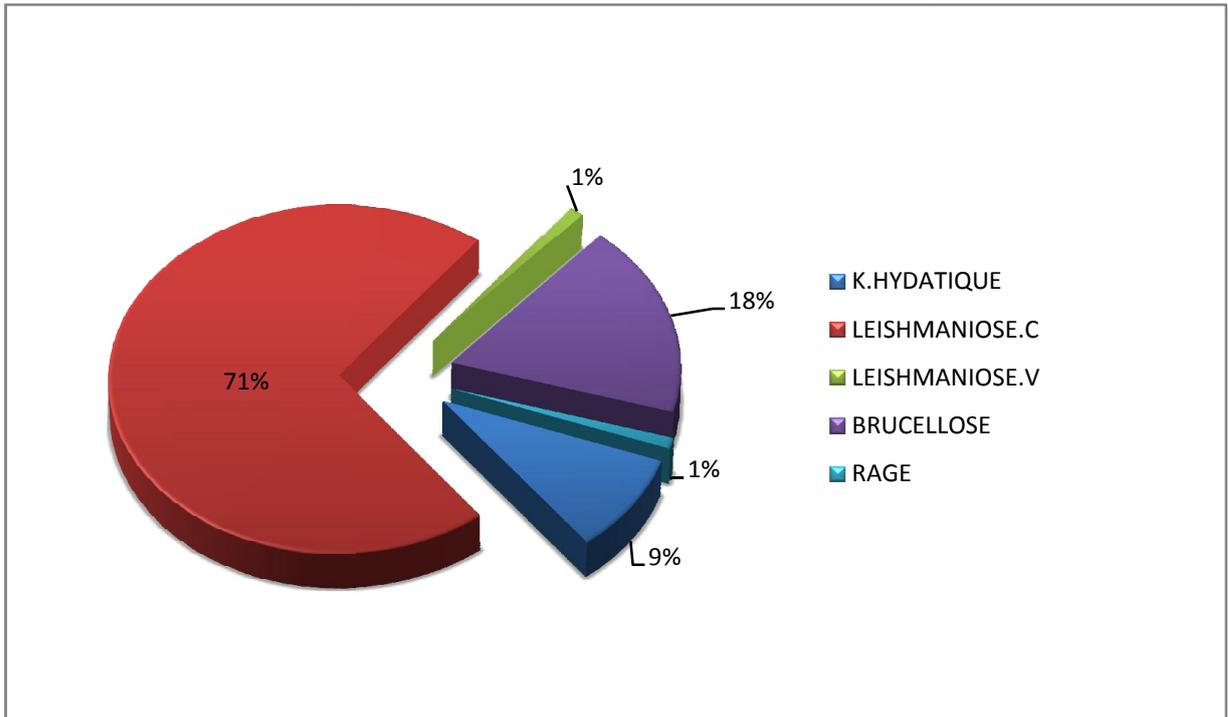


Figure 5.1 : Proportion des zoonoses à Médéa, sur une période de 10 ans (de 2004 à 2014).

Tableau 5.1 : Evolution du nombre de cas de zoonoses à Médéa, de 2004 à 2014.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total	%
K.hydatique	65	72	67	35	20	23	25	32	40	47	43	469	9
Leishmaniose c	44	1834	584	156	138	103	107	248	123	81	79	3497	71
Leishmaniose v	10	10	4	4	3	3	6	3	2	2	1	48	1
Brucellose	72	104	252	109	71	56	79	54	31	24	32	884	18
Rage	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Total	192	2020	908	304	232	185	217	337	196	154	155	4900	100
Population	896810	908563	911041	924706	814940	735421	849417	866406	883735	901412	919440	/	/
Incidence annuelle	0,0002	0,0022	0,001	0,0003	0,0003	0,0003	0,0003	0,0004	0,0002	0,0002	0,0002	/	/

Après avoir analysé les résultats on remarque que :

- Les leishmanioses humaines comptent parmi les zoonoses les plus importantes avec une incidence de 3545 cas, ce qui constitue une proportion de 72% de la totalité des zoonoses déclarées au niveau de la wilaya.
- La brucellose humaine vient en 2ème position avec une incidence de 884 cas, correspondant à un pourcentage de 18 % des zoonoses totales.
- Le Kyste Hydatique occupe la troisième place avec une incidence de 469 cas, soit 9% des zoonoses.
- Enfin la rage vient en dernière position avec une incidence de 2 cas, soit une estimation de 1%.

5.3.1.2. Evolution de la brucellose

L'évolution de l'incidence de la brucellose humaine (nombre de cas annuels) est mentionnée dans le tableau 5.2 et dans la figure 5.2 ; tandis que la figure 5.3 illustre l'évolution du taux d'incidence dans les dix dernières années.

Tableau 5.2 : Évolution de l'incidence déclarée de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014.

Années	Population	Nombre de cas Déclarés	Incidence annuelle pour 10 ⁵
2004	896810	72	8,03
2005	908563	104	11,45
2006	911041	252	27,66
2007	924706	109	11,79
2008	814940	71	7,79
2009	735421	56	6,15
2010	849418	79	5,82
2011	866406	54	6,23
2012	883735	31	3,40
2013	901412	24	2,63
2014	919440	32	3,48
Total	/	884	/

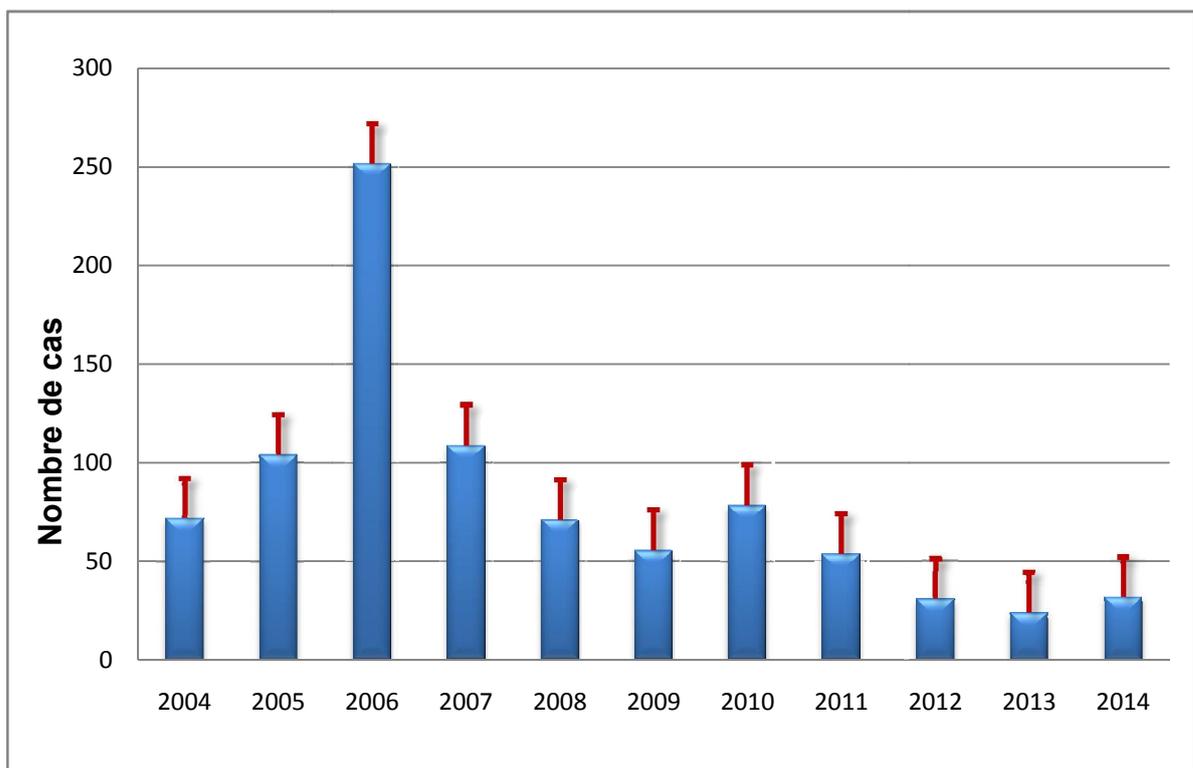


Figure 5.2 : Évolution de l'incidence (nombre de cas) de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014.

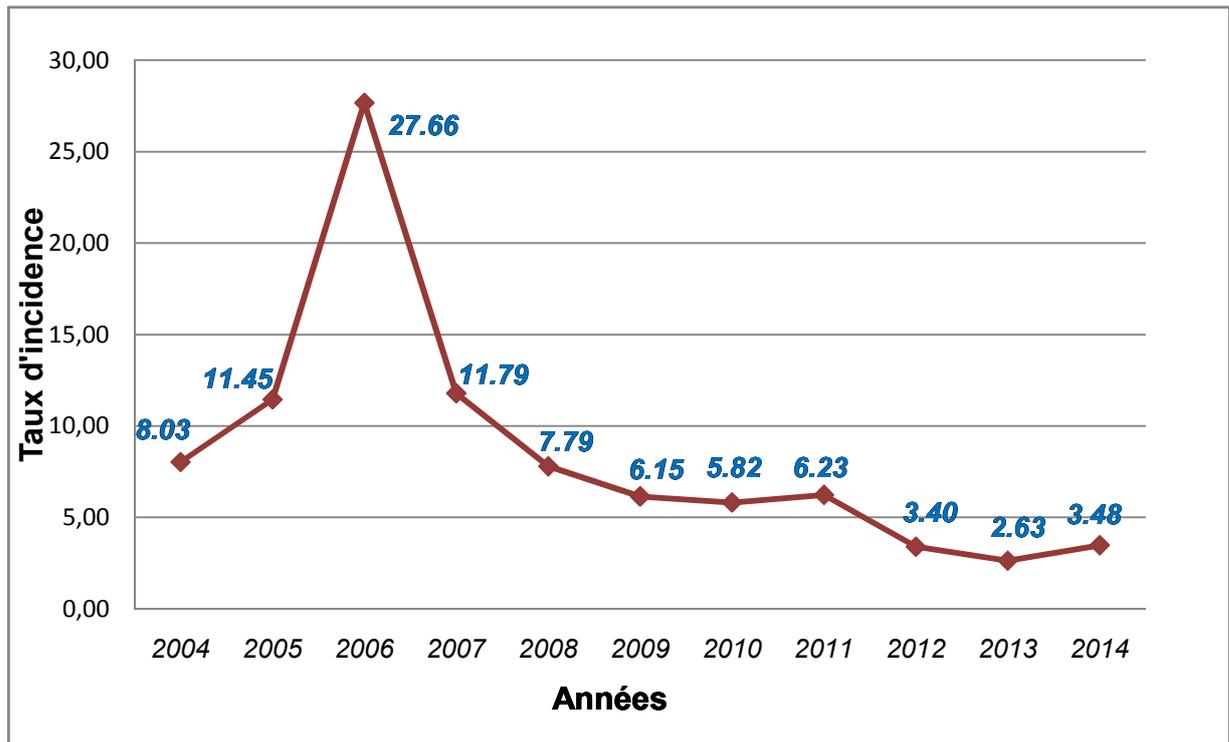


Figure 5.3 : Évolution du taux d'incidence pour 10^5 habitants de la brucellose humaine à Médéa de 2004 à 2014.

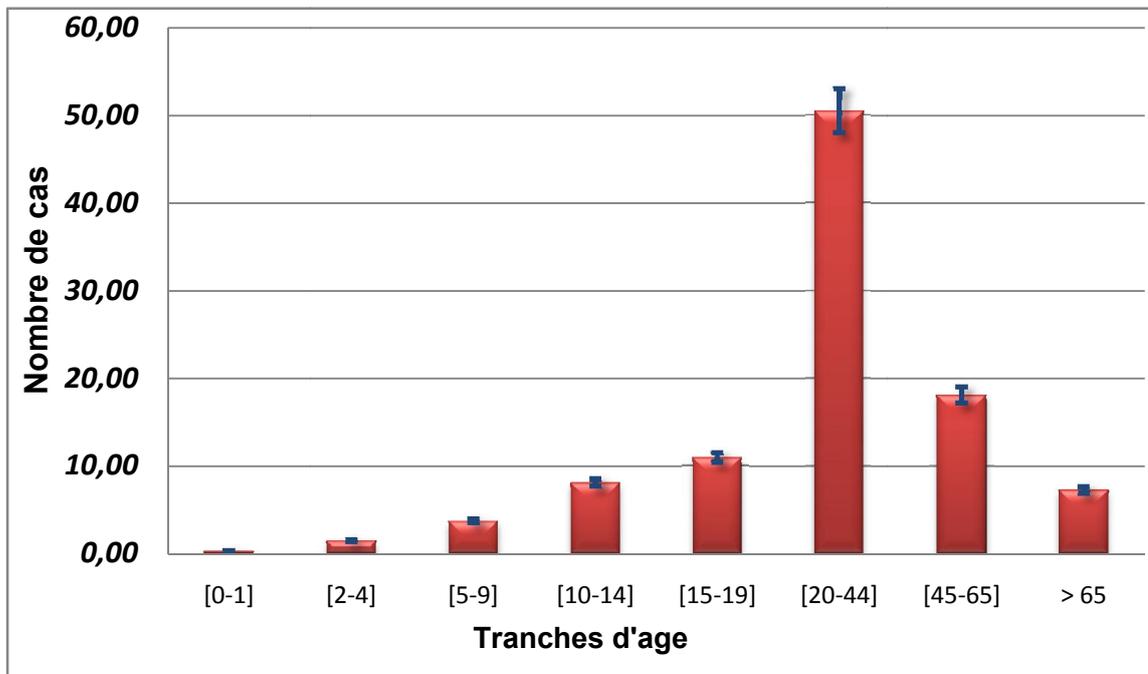
Les cas de brucellose enregistrés durant les dix années d'étude, sont passés de 72 cas (8,03/ 10^5 hab) en 2004 à un pic de 256 cas (27,66/ 10^5 hab) en 2006. Par la suite, une diminution remarquable entre 2007 et 2013 (109 ; 24 cas) (11,79 ; 2,63/ 10^5 hab) à été observée, suivie d'une légère augmentation en 2014 avec 32 cas (3,48/ 10^5 hab).

5.3.2. Répartition selon l'âge

Les tranches d'âge proposées dans le cadre de ce recensement sont représentées comme suit : 0-1 ans, 2-4 ans, 5-9 ans, 10-14 ans, 15-19 ans, 20-44 ans, 45-65 puis > 60 ans.

Tableau 5.3 : Répartition du nombre des cas selon l'âge.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	Total	%
[0-1]	/	/	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0,28
[2-4]	/	/	6	1	0	1	1	0	0	0	1	10	1,41
[5-9]	/	/	9	5	2	3	2	1	1	0	3	26	3,67
[10-14]	/	/	35	7	1	3	4	0	1	1	5	57	8,05
[15-19]	/	/	36	11	8	4	9	1	5	3	0	77	10,88
[20-44]	/	/	113	57	33	30	44	40	15	10	15	357	50,42
[45-65]	/	/	39	20	18	10	12	10	7	5	7	128	18,08
> 65	/	/	13	8	8	5	7	2	2	5	1	51	7,20
Total	/	/	252	109	71	56	79	54	31	24	32	708	100

**Figure 5.4** : Répartition du nombre et du pourcentage des cas de brucellose en fonction de l'âge.

La brucellose touche toutes les tranches d'âge avec des pourcentages différents, ceci peut être confirmé par nos résultats, mentionnés sur le tableau 5.3. La tranche d'âge la plus touchée est celle comprise entre 20 et 24 ans avec 357 cas, suivie de la classe entre 45 et 64 ans (128 cas.). On note cependant une faible réceptivité à l'infection chez les enfants de moins de 10 ans.

5.3.3. Répartition selon le sexe

On observe dans le tableau 5.4 que la majorité des cas sur les 884 enregistrés ont une prédominance masculine. Avec un ratio sexe de 1.53.

Tableau 5.4 : Nombre de cas selon le sexe.

Années Sexe	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	total	%
Masculin	36	62	150	67	43	40	48	39	18	13	19	535	60,52
Féminin	36	42	102	42	28	16	31	15	13	11	13	349	39,48
Total	72	104	252	109	71	56	79	54	31	24	32	884	100

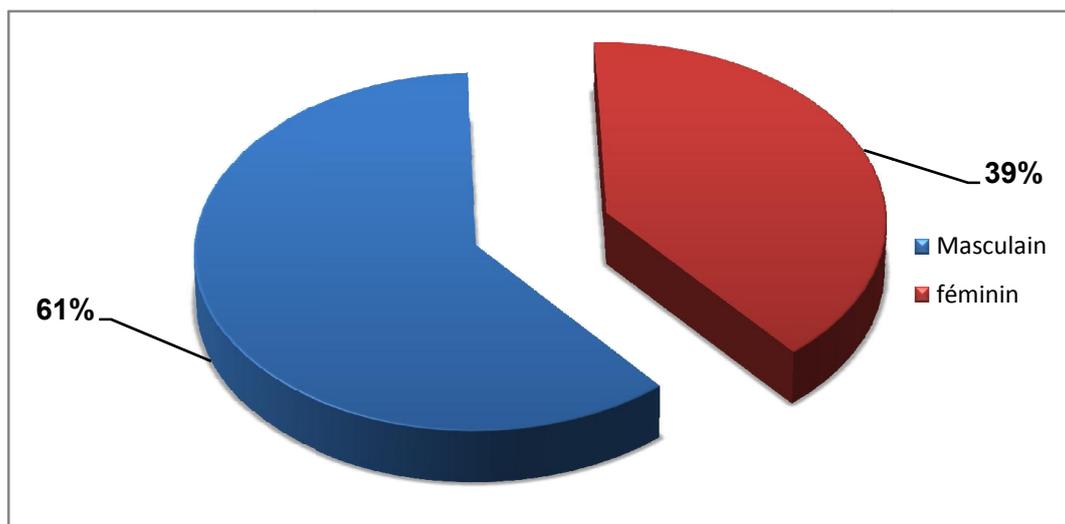


Figure 5.5 : Répartition de la brucellose humaine à Médéa selon le sexe.

Les hommes aussi bien que les femmes contractent la maladie mais à des fréquences différentes laissant estimer avec certitude que les hommes sont de loin les plus affectés.

5.3.4. Répartition selon la saison

Les variations des cas de brucellose humaine selon la saison relatée dans le tableau 5.5, marque son pic au mois de juin avec 118 cas sur un totale de 681, alors que son nombre le plus faible a été enregistré au mois de décembre avec 10 cas.

N.B : Les années 2004, 2005 ne sont pas incluses dans le tableau 5.5, à cause d'absence des données. Le nombre total des cas est de 681.

Tableau 5.5 : Répartition mensuelle des cas de brucellose humaine.

Mois (9 ans)	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Juin	Jui	Aout	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	moyn
Nbr de cas (9 ans)	25	18	41	79	108	118	113	68	57	39	17	10	681	56,75

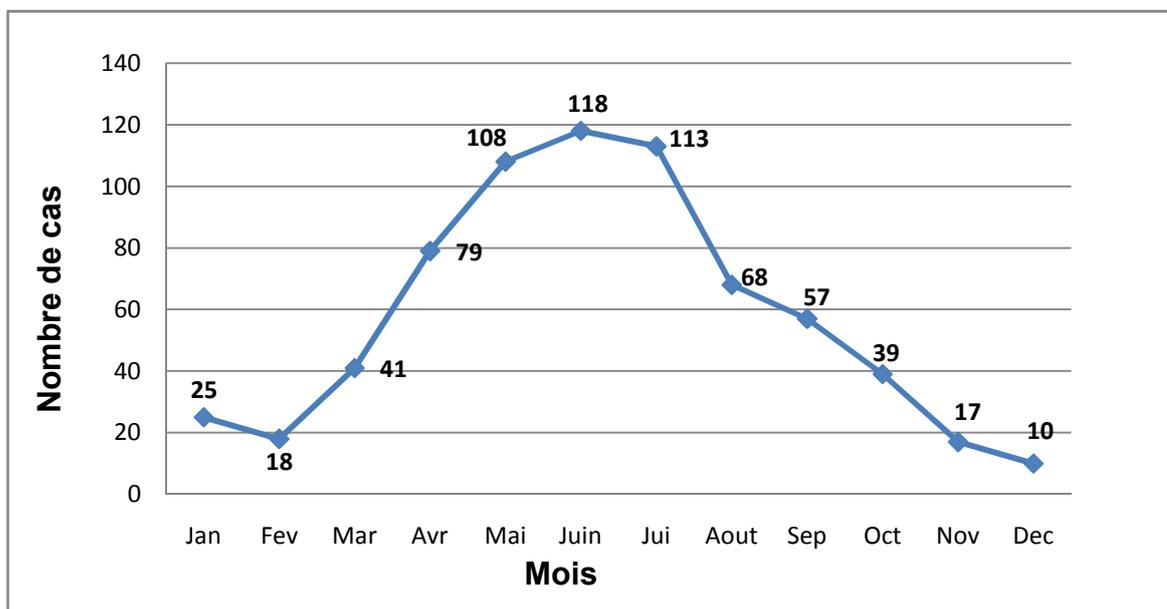


Figure 5.6 : Répartition mensuelles de la brucellose humaine à Médéa.

Les cas de chaque mois correspondent au nombre total des cas enregistrés durant toute la période d'étude (10 ans). Exemple : tous les cas enregistrés durant le mois de janvier des 10 ans est de 25 cas.

5.3.5. Evolution dans l'espace (distribution dans l'espace)**Tableau 5.6** : Répartition dans l'espace (distribution au niveau des communes)

Communes	Nombre de cas	Nombre moyen annuel	Taux d'incidence/ 10 ⁵ habitants
Médéa	26	2,6	1,67
Ben Chicao	7	0,7	6,42
Ouamri	1	0,1	0,55
Si Mahjoub	4	0,4	4,24
Draa Smar	1	0,1	0,89
Berrouaghia	18	1,8	2,69
Ouled Brahim	4	0,4	3,28
Ouled Deid	5	0,5	8,29
Eloumaria	1	0,1	0,42
Robea	3	0,3	5,06
Seghouane	1	0,1	1,5
Khams Djouamea	1	0,1	0,83
Bouchrahil	2	0,2	1,55
Ouled Bouachra	15	1,5	1,52
Ksar El Boukhari	280	28	35,97
Ouled Hellal	5	0,5	13,24
Ouled Antar	67	6,7	296,86
Boughar	13	1,3	19,66
Saneg	7	0,7	17,85
Meudjbar	9	0,9	14,96
Mfatha	1	0,1	1,46
Aziz	107	10,6	89,09
Derrag	87	8,7	107,93
Oum Djellil	15	1,5	37,34
Chahbounia	61	6,1	40,46
Boughezzoul	67	6,7	34,75
Bouaich	4	0,4	4,06
Chellalet Eladaora	17	1,7	5,49
Ain Boucif	33	3,3	11,35
Aouinet	3	0,3	6,26
Sidi Damed	3	0,3	5,17
Ouled Maaraf	5	0,5	4,85
Souagui	2	0,2	1,16
Sedraya	9	0,9	10,45
Total	884		9.6

Au sein de la wilaya de Médéa l'évolution dans l'espace de la brucellose illustrée par le tableau 5.5 montre que le nombre de cas le plus important (280) a été enregistré dans la commune de Ksar Elboukhari suivi successivement par les communes de Aziz (106) et Médéa (28). Cependant la distribution spatiale de la maladie en se référant aux taux d'incidence nous dévoile ainsi une autre distribution mettant la commune de Ouled Anter en tête de liste avec un taux très important ($269,86/10^5$ habitants), suivie par celles de Derrag ($107,93/10^5$ habitants), Aziz ($89,09/10^5$ habitants) et Chahbounia ($40,46/10^5$ habitants).

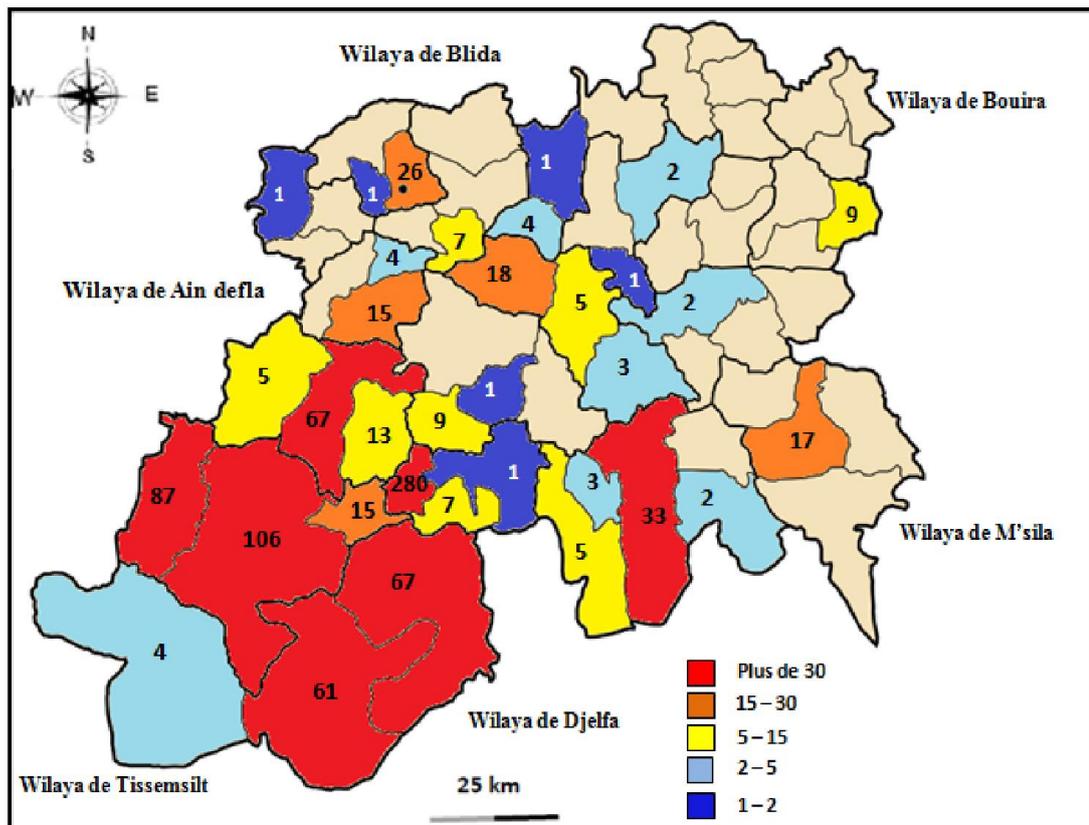


Figure 5.7 : Répartition géographique des 884 cas de la brucellose humaine à Médéa, de 2004 à 2014.

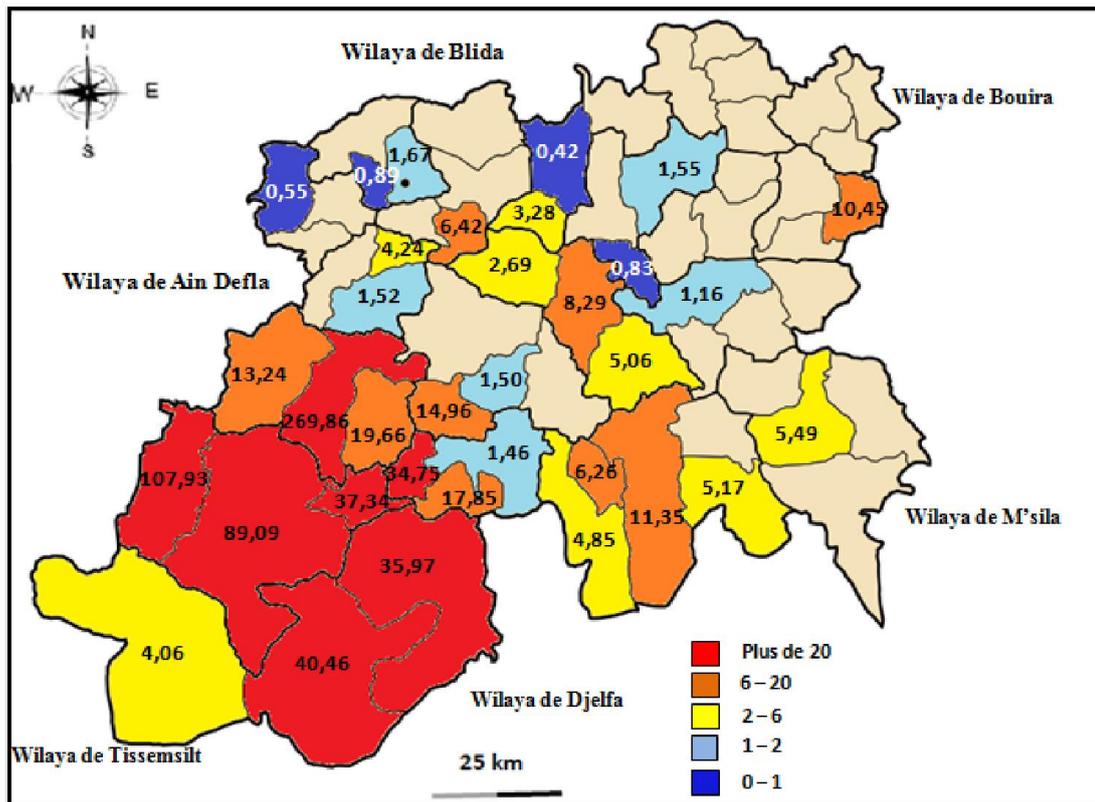


Figure 5.8 : Incidence annuelle moyenne pour 10^5 habitants et par commune de la brucellose de la wilaya de Médéa entre 2004 et 2014.

5.4. Discussion

5.4.1. Evolution dans le temps et dans l'espace

Les recensements effectués au niveau de la DSP de la wilaya de Médéa concernant la fourchette s'étalant de l'an 2004 à 2014 ont révélé 884 cas de brucellose humaine. Selon certains spécialistes du terrain (médecins), ce chiffre relatif aux cas hospitalisés, est sans doute inférieure à la réalité dans la mesure où plusieurs cas échappent au diagnostic à cause de l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les zones rurales. Cependant, l'absence de déclaration systématique des cas de brucellose par le secteur privé vient perturber inmanquablement les statistiques du moment.

Une incidence en augmentation apparente entre 2004 et 2006 avec un taux annuel pour 10^5 habitant de 8,03 (72 cas) et 11,45 (104 cas) en 2005 et 2004 respectivement, marquée d'un pic de 27,66 (252 cas) en 2006.

Cependant on observe que les incidences enregistrées entre 2007 et 2014 révèlent une chute remarquable à partir de 2006 allant jusqu'à 2007 marquant une baisse importante de l'incidence passant d'une valeur de 27,66 à 11,79/10⁵ hab. Cette régression soudaine et continue pourrait être la conséquence de l'instauration en 2006 d'un programme de lutte offensive veillant à la vaccination des petits ruminants après la flambée de 2005. Cependant, l'absence d'éradication totale de la brucellose dans la région pourrait s'expliquer par la mise en œuvre d'un programme de vaccination systématique des petits ruminants (caprins, ovins) au sein de 6 wilaya pilotes dont Médéa. La conséquence directe de cette campagne aurait été l'absence de dépistage et la recrudescence éventuelle de la maladie. La persistance des cas de brucellose humaine pourrait s'expliquer selon *MAHDJOUR et al.* 2011[100], par les mouvements du cheptel ovin et caprin d'une région à une autre ainsi que les grands attroupements d'animaux dans les marchés hebdomadaire, ce qui augmenterait le risque de propagation de cette zoonose.

A travers le territoire national, les cas de brucellose déclarés varient d'une région à l'autre. Une enquête rétrospective menée au niveau des services des maladies infectieuses de Batna [101] entre janvier 2007 et décembre 2011 a pu recenser 121 cas hospitalisés. Par ailleurs, dans la région de Sidi-Belabass, les travaux de *TABET et al.* 2012 [102] englobant trois décennies (janvier 1980 à décembre 2010), ont révélé une incidence annuelle de 62,8 cas /an. L'incidence des cas déclarée par l'INSP d'Alger (19,4 cas /10⁵ habitant en 2009), vient confirmer que la brucellose humaine reste néanmoins un problème omniprésent de la santé publique occasionnant des pertes économiques contrastant avec une sous déclaration très probable de la brucellose animale [101].

5.4.2. Répartition selon l'âge

Nos résultats sur la distribution des cas selon l'âge montrent que sur un total de 708 cas, plus de la moitié étaient des sujets de la tranche d'âge comprise entre 20 et 44 ans, nos résultats sont proches à ceux rapporté par *S. DAO et al* [103] constatant que la tranche d'âge la plus touchée concernait des jeunes entre 20 et 26 ans et que cette dernière englobait principalement les individus exerçant

les métiers d'éleveurs (femme, homme) et de bouchers. Les résultats de notre étude révèlent aussi une classe socioprofessionnelle renfermant le personnel des abattoirs, les éleveurs (femmes, hommes) ainsi que les vétérinaires. Ceci pourrait s'expliquer par le risque d'exposition et de contamination accrus dans l'exercice de ces métiers à savoir le contacte directe avec les animaux et les surfaces infectés. Cette contamination est d'autant plus fréquente du fait que cette tranche sociale est l'une des plus grandes consommatrices de produits laitiers non pasteurisés considérés comme principales sources de contamination par la brucellose [109].

Les résultats ont montrés qu'au sein de l'échantillon de population étudié, la fréquence de la brucellose tendait à diminuer chez les autres tranches d'âge. Ceci pourrait s'expliquer par une exposition moins fréquente aux sources d'infections.

5.4.3. Répartition selon le sexe

Il est important de soulever que durant les dix dernières années 60,52% les cas humains enregistrés étaient principalement de sexe masculin opposés à 39,48% du sexe féminin, autrement dit sur 884 cas, les hommes représenteraient 535 cas, alors que les femmes ne compteraient que 349 cas . Le sex-ratio homme/femme était de 1.5. Plusieurs études ont prouvé que l'homme est plus souvent touché par la brucellose. On note, en Tunisie un sex-ratio homme/femme de 1,45 [109], un ratio proche à été enregistré au mali 1.17 [103], ceci pourrait s'expliquer par le fait que la plus part des professionnels de filière agricole sont de sexe masculin, à savoir les vétérinaires, éleveurs, bergers, employés d'abattoirs et bouchers. Ces derniers seraient exposés au risque d'infection par contact direct avec les sources de contamination.

5.4.4. Répartition saisonnière

Nos résultats ont montré que la brucellose dans la région de Médéa a été observée au cours des douze mois de l'année avec une moyenne de 56,75 cas. Cependant, la période s'étalant entre Mai et Juillet se distingua par le plus grand

nombre de cas enregistrés estimé à 108 en Mai, 118 en juin et 113 en Juillet. Ceci pourrait s'expliquer par la littérature [26], rapportant fidèlement que dans les pays à climat tempéré ou froid, il existerait une variation saisonnière marquée de l'incidence de la brucellose aiguë, avec un pic saisonnier au printemps et en été.

Cela coïnciderait avec les périodes de parturitions et/ou d'avortements chez les animaux d'élevage, augmentant ainsi les risques de contamination de l'homme constituant une cible de prédilection soit par sa proximité de l'animale (éleveur, ouvrier agricole, vétérinaire etc....) ou en consommant du lait infecté durant la période chaude. L'effet saisonnier de la brucellose est plus apparent chez les ovins et caprins que chez les bovins. Ceci pourrait probablement s'expliquer par une période de lactation plus longue chez les bovins. Dans les zones tropicales et subtropicales, il n'y a aucune influence saisonnière sur l'incidence de la brucellose [26].

5.4.5. La distribution géographique des cas de brucellose

La répartition géographique de 884 cas de brucellose humaine à Médéa, durant ces dix dernières années est représentée dans la Figure 5.7 (Cf. V, étude I). Nos résultats montrent que sur un total de 64 communes, près de la moitié (34 communes) ont fait l'objet de déclaration de la maladie. Ainsi dans la wilaya de Médéa, nous pouvons distinguer au moins 05 communes (Ksar El Boukhari, Aziz, Derrag, Boughezzoul et Chahbounia) qui pourraient être considérées comme foyers classiques de la brucellose humaine.

En effet, ces cinq communes citées ci-dessus sont toutes situées dans la région Ouest de la wilaya de Médéa, cela pourraient être dues au mode de vie, et au type d'élevage pratiqué dans ces régions. Sachant que la région de l'Ouest est une région steppique où l'élevage est souvent mixte (Bovins, caprins, ovins), où le risque d'infection, par *Brucella melitensis* la souche la plus dangereuse pour la santé humaine est très important cette dernière a comme hôte préférentielle les caprins et accidentellement les bovins [23,24], par ingestion de lait cru et de ses dérivés ainsi que la contamination directe par un matériel biologique souillé lors des mises bas ou d'avortements d'animaux infectés, est très élevé. Par contre

l'incidence de la maladie est plus faible dans la région de l'Est à cause de l'élevage à prédominance bovin.

Cependant, il est important de signaler que du fait de la rareté des points hospitaliers de localités, palliés par l'existence d'établissements publics hospitaliers (EPH) ; point de convergence de plusieurs localités dépourvues de services sanitaires, fausserait notre estimation réelle de l'étendue de la maladie. Sachant que les cas de brucellose reflèteraient, en réalité, les localités où le diagnostic a eu lieu. L'adresse exacte des cas déclarés pourrait ne pas avoir été prise soigneusement (village, commune).

5.5. Conclusion

La brucellose reste une infection d'actualité par l'importance de sa diffusion mondiale. Son impact sur la santé publique est révélé par le nombre élevé des cas humains déclarés. Elle occupe la deuxième place parmi les maladies zoonotiques en Algérie et constitue un problème majeur en santé publique.

En Algérie, après plusieurs années de lutte depuis 1995, l'incidence annuelle nationale reste toujours élevée causant des pertes économiques par l'abattage des animaux et la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cette maladie. Une étude épidémiologique rétrospective a montré que de 1995 à 2010, l'incidence nationale de la brucellose humaine est passée de 7,9 à 23,65 cas par 100 000 habitants.

Concernant la wilaya de Médéa, notre étude rétrospective a montré qu'au cours de cette dernière décennie, la brucellose humaine occupe ainsi la deuxième place après la leishmaniose viscérale avec une incidence de 884 cas, ce qui nous permet de conclure que malgré les programmes de lutte entrepris, cette wilaya a toujours fait partie du foyer de brucellose humaine au centre, et cela par l'introduction incessante et non contrôlées d'animaux de statut sanitaire inconnu dans des troupeaux initialement présumés sains. Ce qui handicape les efforts de l'Etat.

La brucellose humaine touche beaucoup plus les adultes âgés de 20 à 44 ans, ils représentent à eux seuls plus de 50.42% des cas, les autres tranches d'âges sont moins infectés. Cependant les hommes sont plus touchés par rapport aux femmes avec un pourcentage très élevé qui est presque de 61% et un sex-ratio homme/femme de 1.53. La brucellose se manifeste durant toute l'année (4 saisons) avec un pic d'incidence enregistré au mois de juin (118 cas). Pour la distribution géographique des cas positifs, la région Ouest reste la plus touchée par rapport à la région Est.

Cette persistance de la maladie ne serait en fait que la conséquence des nombreuses défaillances du programme de lutte anti brucellique, dont uniquement la bonne maîtrise et application rigoureuse pourrait éradiquer pour toujours la maladie.

CHAPITRE 06

ETUDE II : SEROPREVALENCE DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS LA REGION DE MEDEA

6.1. Introduction

Dans le bassin méditerranéen ainsi que dans une grande partie du monde la brucellose constitue une zoonose grave de par son impact sur la santé publique (zoonose majeure) ainsi que les conséquences économiques qui en découlent.

En Algérie, malgré l'installation d'un programme de lutte (dépistage-abattage) en 1995, la brucellose bovine sévit toujours en permanence (enzootie) dans nos élevages, cela explique le nombre des cas humains très élevés enregistrés chaque année.

Des études épidémiologiques ont montré qu'il ya une association fortement significative entre la brucellose humaine et la brucellose animale. L'incidence des cas humains augmente dans les régions rurales où le taux de prévalence de la brucellose animale est élevé [110].

La brucellose humaine est une maladie grave surtout chez l'homme car elle provoque des polyarthrites et de stérilités, d'où l'importance d'estimer sa prévalence chez les bovins dans le but d'évaluer le risque pour l'homme et pour la santé animale.

Les objectifs de cette étude sont de :

- D'estimer la séroprévalence de la brucellose bovine dans la région de Médéa (Région rurale par excellence) ;
- D'évaluer les facteurs de risque, et la répartition géographique des différents foyers de brucellose bovine dans la région d'étude.

6.2. Matériel & Méthodes

Afin d'atteindre nos objectifs nous avons procédé à des visites dans certains élevages situés dans la wilaya de Médéa, nous avons fait des prélèvements sanguins, et à l'aide de fiches de renseignements nous avons pu collecter des informations données sur le mode d'élevage (Appendice D).

6.2.1. Indicateurs épidémiologiques

6.2.1.1. Région d'étude

L'étude a été réalisée dans la wilaya de Médéa qui a une superficie de 8775.65 Km². Cette wilaya est à vocation agropastorale connue par sa grande activité en matière d'élevage Bovin, ovin et caprin.

6.2.1.2. Situation géographique

La wilaya de Médéa est située dans le centre du pays au cœur de l'Atlas tellien, elle constitue une zone de transit et un trait d'union entre le Tell et le Sahara, et entre les Hauts Plateaux de l'Est et ceux de l'Ouest. Elle est délimitée au nord, par la wilaya de Blida; à l'ouest, par les wilayas de Ain Defla et Tissemsilt ; au sud par la wilaya de Djelfa et à l'est, par les wilayas de M'Sila et Bouira.

6.2.1.3. Reliefs

La wilaya de Médéa est située dans l'Atlas tellien et se caractérise ainsi par une altitude élevée et un relief mouvementé enserrant quelques plaines de faible extension. Au sud, elle s'étend aux confins de hautes plaines steppiques. La wilaya se caractérise par quatre principales zones géographiques:

- **Le Tell montagneux** : région forestière au relief marqué, au climat rude et peu peuplée, ceinturant la wilaya à l'Ouest et au Nord, depuis l'Ouarsenis jusqu'au massif de Tablat ;

- **Le Tell collinien** : région de peuplement à vocation agricole, située dans le centre de la wilaya ;
- **Les plaines du Tell** : situées à l'intérieur du Tell collinien, elles sont consacrées à la céréaliculture, toutefois la polyculture est récemment implémentée ;
- **Le piémont méridional du Tell** : zone de transition vers les hautes plaines steppiques, il est caractérisé par une pluviométrie irrégulière

6.2.1.4. Climat

Le climat de Médéa se distingue par des caractéristiques dues à sa position sur les monts de l'Atlas tellien et son altitude qui atteint 1240 m ainsi qu'à son exposition aux vents et aux vagues de courants venant de l'Ouest.

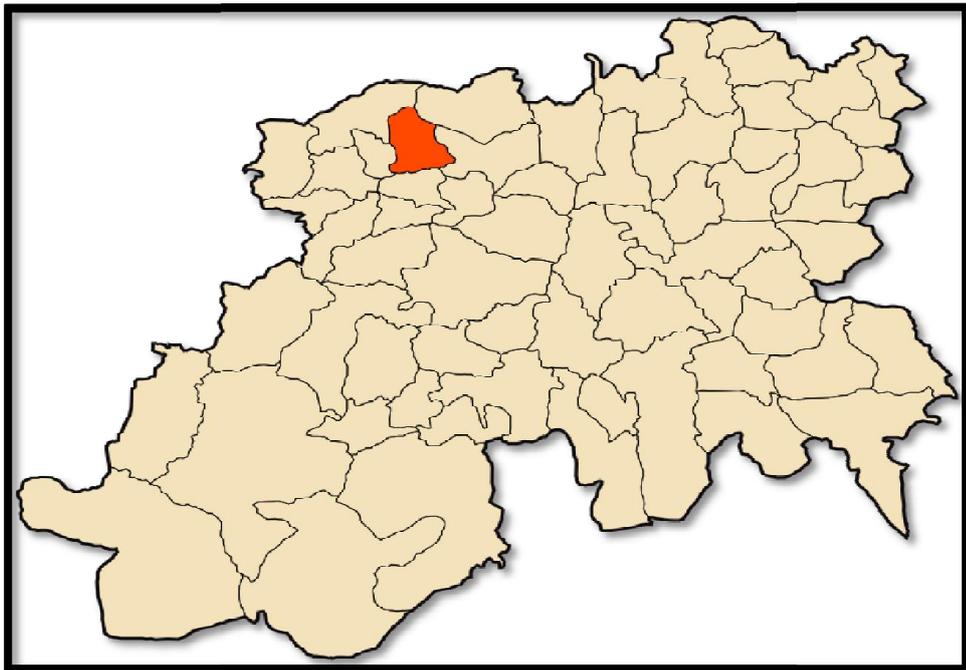


Figure 6.1: Carte géographique de la wilaya de Médéa. [111]

6.2.1.2. Période d'étude

Notre enquête sérologique transversale s'est étalée sur une période de 4 mois (de mi-septembre 2014 jusqu'à la fin Janvier 2015).

6.2.1.3. Définition de cas

Dans notre enquête, un bovin est considéré brucellique, lorsque ce dernier donne une réponse positive au test de rose Bengale qui à une sensibilité de 100 % et une spécificité de 98 %. Concernant la prévalence au sein du troupeau, chaque élevage présentant un bovin positif est considéré comme élevage infecté.

6.2.1.4. Unité épidémiologique

Dans notre étude nous avons pris un animal comme unité démographique de base, et un groupe d'animaux comme un élevage.

6.2.1.5. Population d'étude

Notre population est constituée par tous les bovins adultes de la région d'étude, les veaux et les génisses ont été donc exclus de l'étude.

6.2.2. Echantillonnage

6.2.2.1. Plan d'échantillonnage

Notre échantillon est basé sur la clientèle des vétérinaires praticiens de la région de Médéa. A cause du manque d'une base de sondage (listes exhaustives) nous avons procédé à un échantillonnage empirique qui est comme suit :

Nous avons sollicité 18 vétérinaires qui exercent sur 18 communes dans la région de Médéa (64 communes), 10 seulement ont accepté de collaborer à la réalisation de ce travail.

6.2.2.2. Critères d'inclusion

Nous avons pris tous les élevages de la région d'étude comme une base d'échantillonnage, par conséquent on a inclus tous les élevages bovins laitiers de la région d'étude.

6.2.3. Nombre et caractéristiques des élevages

La répartition des élevages varie considérablement d'une région à l'autre, nous avons visité 58 élevages, le nombre d'individu varie entre 1 et 26 bovins par élevage. Vu que la région d'étude se caractérise par une prédominance des élevages à caractère familiale (< 5 bovins), on a été obligé d'inclure ce type d'élevage dans notre étude.

Chaque élevage était concerné par une fiche d'élevage remplis à l'aide du propriétaire (Appendice D). La population d'étude est constituée principalement par des bovins laitiers de l'une des races Holstein, Montbéliard, Flekchvie et brune des alpes et par des bovins de race améliorée et locale (élevages familiaux).

On note que 10 éleveurs ont refusé de contribuer avec nous, à cause de la flambé de l'épizootie de la fièvre aphteuse, parce que les éleveurs avaient peur de la transmission de la maladie d'un élevage à un autre.

6.2.4. Identification de l'animal

Les fiches de prélèvements qui ont accompagné chaque prélèvement, nous ont permis de récolter les données comme suit (Appendice C):

- Numéro d'identification
- Sexe
- Age
- Race
- La date d'introduction de l'animal dans l'élevage
- Gestation
- Avortement.

6.2.5. Prélèvements

a-Matériels

Nous avons utilisé le matériel suivant : une pince mouchette, Tubes sous vide type Vacutainer® ; Aiguilles G 21; Adaptateur ; Glacière ; appareil photo, stylo et une fiche de renseignement,

b-Site et technique de prélèvement

Pour notre étude, nous avons réalisé des prélèvements sanguins. Le sang est prélevé à la veine jugulaire dans des tubes secs sous vide type Vacutainer®, Après chaque prise de sang, le tube était ensuite identifié, et le numéro reporté sur une fiche de prélèvement. Les prélèvements sont acheminés dans une glacière vers le laboratoire pour la centrifugation puis la congélation a une température de -20° .



Figure 6.2 : Identification de l'échantillon et remplissage de la fiche de renseignement (Photo personnelle).

c-Acheminement et centrifugation

Les échantillons sont acheminés dans une glacière sous une température de $+4^{\circ}$ vers le laboratoire bactériologique et biochimique de l'Etablissement Hospitalier Public (EHP) Béni Slimane pour la centrifugation.

Nous avons fait une centrifugation de 4000 tours/mn pendant 5 mn, (Fig 6.3), les sérums ont été prélevés par une micropipette avec des embouts (Fig. 6.4) et mis dans des tubes Eppendorfs identifiés (Fig.6.5). Ces derniers sont stockés au congélateur -20° pour être transportés ultérieurement au laboratoire de microbiologie, Université de Médéa.



Figure 6.3: Centrifugation (Photo personnelle).



Figure 6.4: Récolte du sérum (Photo personnelle).



Figure 6.5: Sérums dans des tubes Eppendorfs référenciés (Photo personnelle).

6.2.5.1. Analyses sérologiques des prélèvements

Nous avons fait nos analyses sérologiques au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Médéa, durant le mois de mai 2015 par l'utilisation du test au Rose Bengale (Spinreact ® : Se 100 %, Sp 98 %). Pour l'analyse sérologique des prélèvements.

Afin de décongeler les sérums, nous les avons laissé à température ambiante avec l'antigène, à l'aide d'une micropipette Pasteur munie d'un embout stérile et renouvelé après chaque utilisation, et sur une plaque munie de 6 puits,

une goutte de 25 μ l de sérum à tester est déposée dans chaque puits, après l'agitation du flacon de l'antigène, une goutte de 25 μ l est déposée à côté de chaque sérum, un bâtonnet en plastique est utilisé pour mélanger le sérum et l'antigène, après agitation de 4 minutes, en présence d'anticorps, il se produit une agglutination visible à l'œil nu (ressemble au témoin positif), tandis qu'en absence d'anticorps, le mélange reste homogène.



Figure 6.6 : Préparation des sérums



Figure 6.7 : Agitation (photo personnelle)

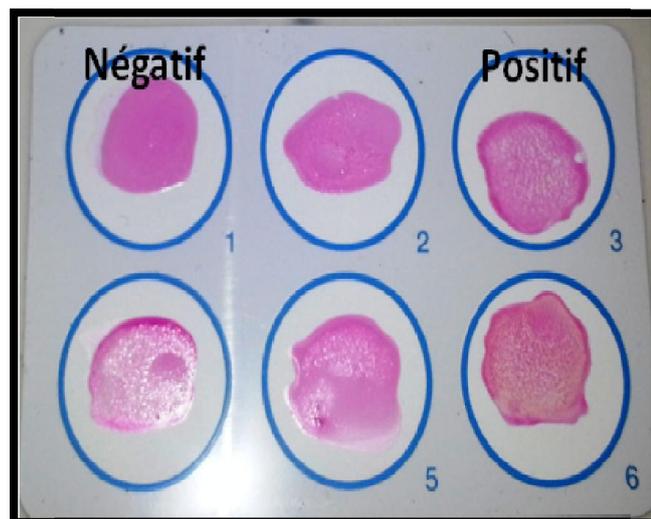


Figure 6.8 : Résultats positif et négatif (photo personnelle).

6.2.2. Collecte et saisie des données

Les renseignements collectés (les résultats des fiches de prélèvements) sont enregistrés sur un bloc note, saisie au fur et à mesure sur un programme *Microsoft Excel 2007*.

6.2.7. Analyses statistiques

L'analyse des variables est réalisée avec le test chi deux avec un risque d'erreur de 5% ($\alpha=5\%$) et les représentations graphiques sont réalisées à l'aide de programme Excel 2007.

Le test du chi deux permet de déterminer si les différences entre plusieurs pourcentages trouvés sont significatives ou pas.

6.2.7.1 Calcul de la prévalence

Les calculs des taux de prévalence sont effectués en utilisant la formule suivante [112]:

Prévalence apparente = nombre d'animaux positifs / nombre d'animaux testés

Le taux de prévalence n'est que l'expression de la prévalence sous forme de pourcentage.

La prévalence obtenue ici est calculé à partir du nombre d'animaux positifs au test de dépistage. C'est donc une prévalence apparente puisqu'elle est basée non sur le nombre d'animaux malades, mais sur le nombre d'animaux positifs.

6.2.7.2. Calculs des intervalles de confiance

Nous avons calculé les intervalles de confiance par l'utilisation de la formule suivante [113] :

$$IC = [pA - 1,96 \sqrt{ pA \cdot qA / n } ; pA + 1,96 \sqrt{ pA \cdot qA / n }]$$

Avec pA : la prévalence apparente et qA = (1- pA), n la taille de l'échantillon

Mais en cas d'inexécutabilité, nous avons utilisé des tables des intervalles de confiance ; proposées par Jean (1996) [114].

6.3. Résultats

6.3.1. Résultats des fiches d'élevage

Les visites effectuées sur 58 élevages étalées sur 18 communes dans la région d'étude nous ont permis de collecter les informations nécessaires.

Les résultats ont été mis dans des tableaux comportant le nombre et le pourcentage des réponses sur un fichier Excel, que nous avons joints en (appendice : E).

La synthèse des résultats des fiches d'élevages fait ressortir les points suivants :

- **Type d'élevage**

Celle-ci a été obtenue à travers une question qui avait pour objectif :

- Elevage bovin seulement ou mixte (bovins, ovins et caprins)

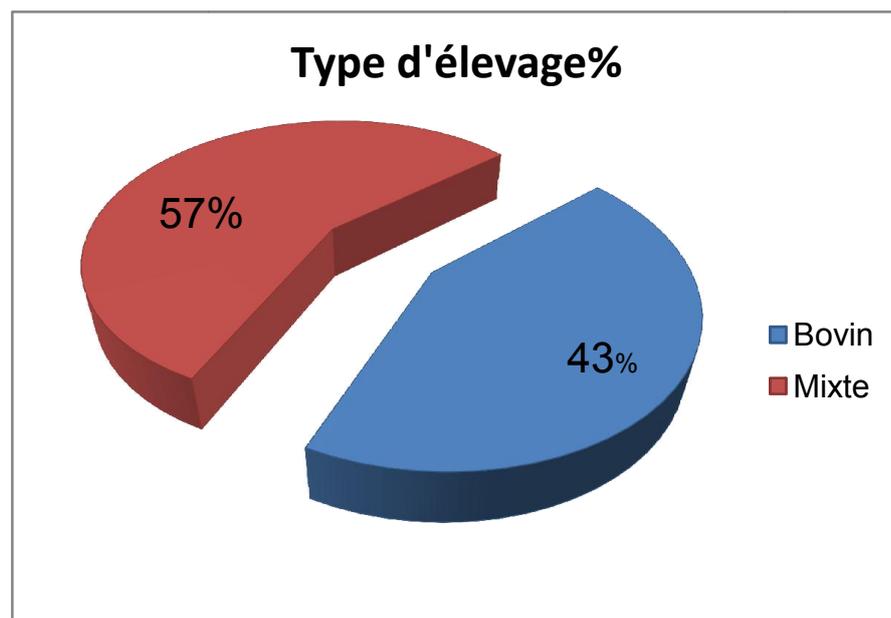


Figure 6.9. : Distribution selon le type d'élevage.

Nous constatons que la majorité des élevages sont mixte 57% par contre 43% sont des élevages bovins (Figure 6.9). Ceci pourrait augmenter le risque de transmission interspécifique de la brucellose au sein des élevages mixtes.

▪ Fréquence des avortements

Deux questions ont été posées aux éleveurs pour connaître la présence ou l'absence des avortements ainsi que leur fréquence.

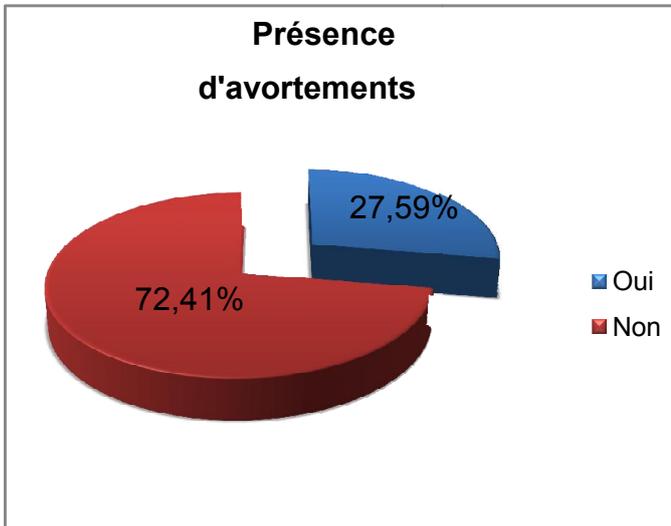


Figure 6.10. : Présence d'avortement dans les élevages.

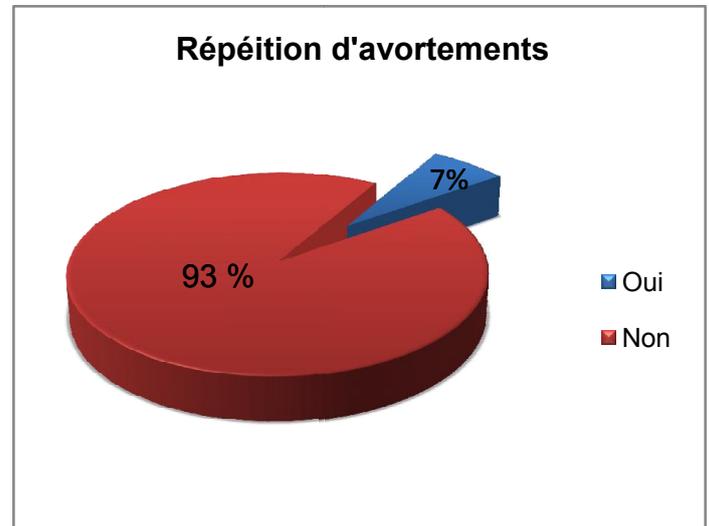


Figure 6.11. Fréquence de récurrence des avortements.

Le bilan de notre enquête révèle que les avortements étaient présents chez 27,59 % des élevages, alors que les 72,41% restant en étaient indemnes.

Aussi nous avons remarqué que chez la majorité des élevages (93%), les avortements répétitifs concernaient uniquement les (7%) (Figure 6.11).

Cette question qui a traité d'avortement a engendré une hésitation de la part des éleveurs lors du remplissage des fiches d'élevage, ce qui nous laisse un peu prudent en ce qui concerne le pourcentage réel de récurrence des avortements qui pourrait être revus à la hausse.

▪Connaissez-vous la brucellose

L'objectif de cette question est de nous renseigner sur le degré de connaissance des éleveurs concernant cette grave maladie :

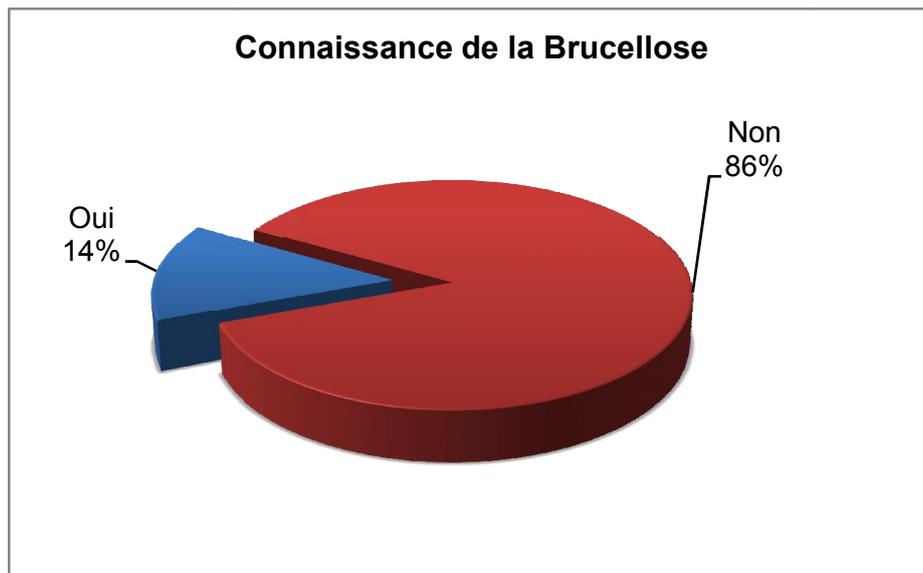


Figure 6.12 : connaissance de la brucellose.

Nous avons constaté que la plus part des éleveurs ne connaissent pas la brucellose (86%) et que seulement une petite tranche d'entre eux prétendent la connaître (14%). Ce qui laisse la majorité d'entre eux méconnaissant vis-à-vis des conséquences qui peuvent en découler.

6.3.2. Résultats de l'étude sérologique

6.3.2. 1. Prévalence individuelle

Un bovin est considéré positif lorsqu'il donne un résultat positif au test de Rose Bengale (E.A.T). A cet effet, un élevage est considéré comme étant positif si au moins un animal de l'élevage en question est positif.

En fonction des résultats nous avons calculé la prévalence des bovins positifs qui sont reportés dans la figure 6.13.

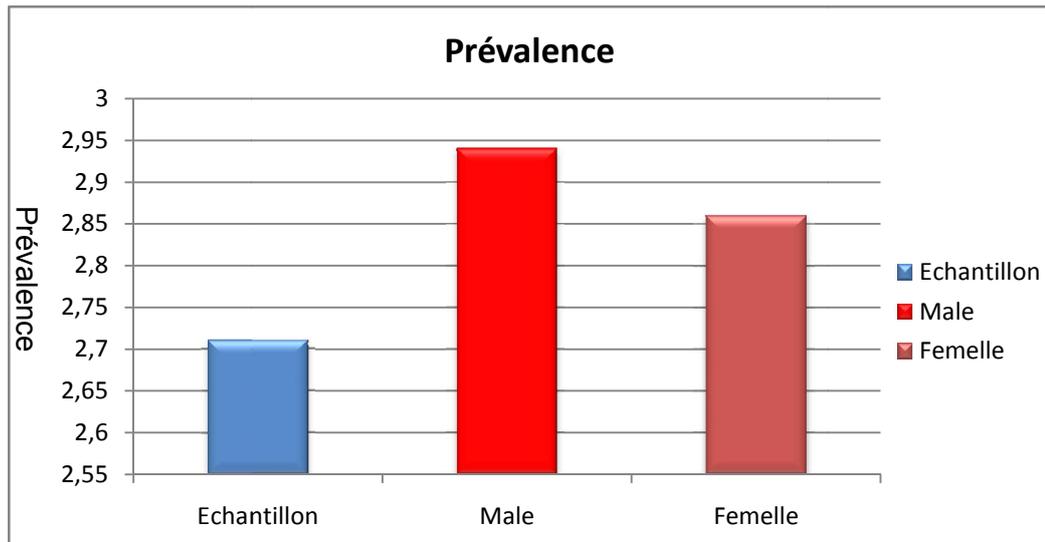


Figure 6.13 : prévalence individuelle de la brucellose bovine.

Nous avons récolté 300 prélèvements sanguins, dont 5 sont hémolysés. Le test au Rose Bengale que nous avons utilisé sur 295 bovins, (34 mâles, 261 femelles), a révélé un taux de prévalence de l'infection de 2,71% \pm 1.81. Dont 2,94 % chez les mâles et 2,86 % chez les femelles (8 bovins positifs : 1 mâle, 7 femelles).

6.3.2. 1. Prévalence troupeaux

Les informations relatives à la prévalence troupeaux ainsi que l'intervalle de confiance sont rapportées dans le tableau 6.1.

Tableau 6.1 : Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des troupeaux.

	Total (%)	Positifs (%)	Négatifs (%)	[IC]
Elevages	58 (100)	8 (13.80)	50 (87.20)	[13,73 ; 13,87]

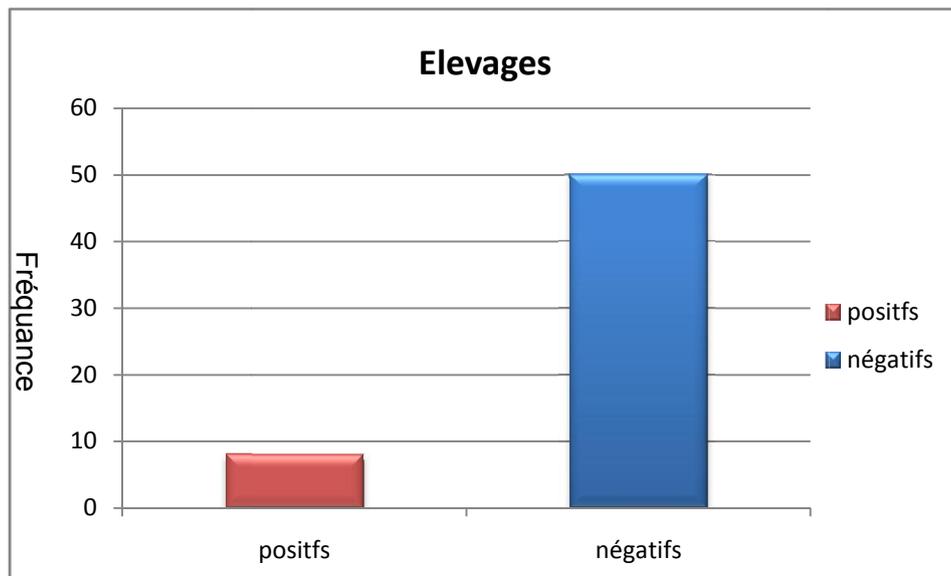


Figure 6.14 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction des troupeaux.

Dans notre étude nous avons prélevé 58 élevages, dont 8 sont séropositifs soit une prévalence troupeau de (13,80%), avec un intervalle de confiance de IC 13,80 % \pm 0,70 (IC 95%).

6.3.1.1 Répartition selon l'âge

Les informations relatives à la répartition des cheptels visités en fonction de l'âge sont rapportées dans le tableau 6.2.

Tableau 6.2: Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des classes d'âges.

	Total (%)	Positif (%)	Négatifs (%)
Bovins \leq 2 ans	101 (100)	1 (1)	100 (99)
Bovins de 2 à 5 ans	139 (100)	1 (0,71)	138(99,29)
Bovins \geq 8 ans	55 (100)	6 (10,90)	49 (89,09)
Total	295 (97,28)	8 (2,71)	287 (100)
Chi-2 corrigé de Yates	0.000009		

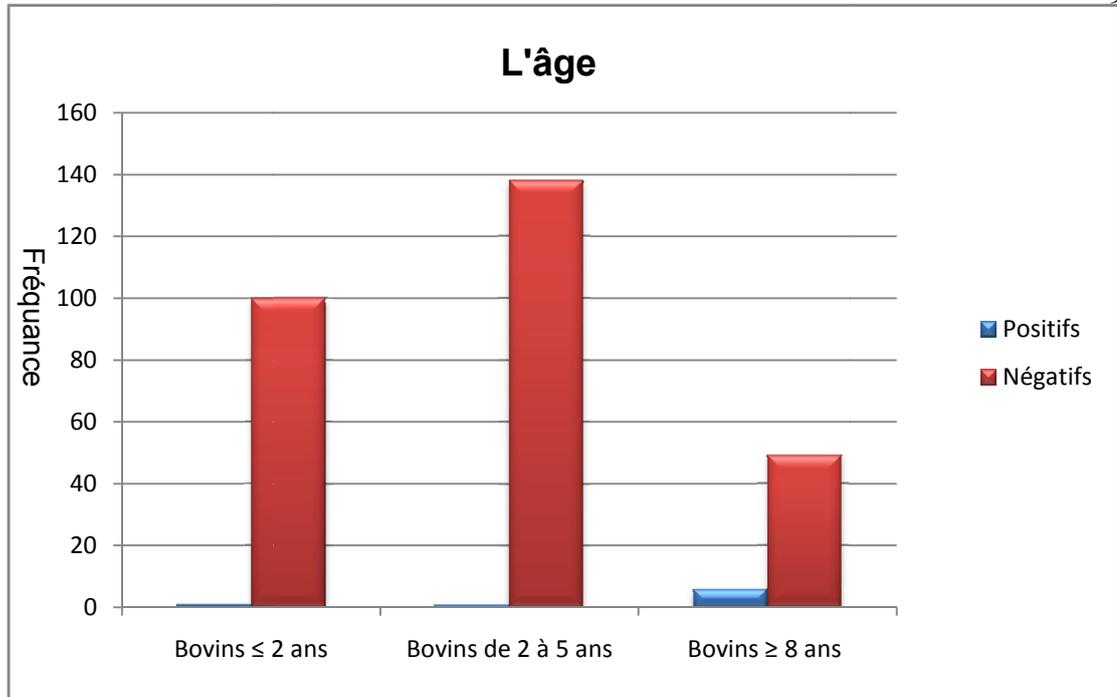


Figure 6.15 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction de l'âge.

Les tranches d'âge proposées étaient : < 2 ans, 2-5 ans puis >5 ans. D'après le tableau 6.2, on remarque que les bovins âgés de plus de 8 ans sont les plus touchés 6 (10,90%), suivie par les deux autres classes ≤ 2 ans et 2 à 5 ans avec 1 (1%), 1 (0.71%) respectivement. La comparaison de ces résultats par le Chi2 corrigé de Yates donne un résultat hautement significatif ($p= 0.00009$).

6.3.1.2. Répartition selon le sexe

Les résultats de la séropositivité en fonction du sexe sont rapportés dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction du sexe.

	Total (%)	Positifs (%)	Négatifs (%)
Male	34 (100)	1 (2.94)	33 (97.05)
Femelle	261(100)	7 (2.68)	254 (97.31)
Total	295(100)	8 (2,71)	287 (97.28)
Chi-2 corrigé de yates	0,93		

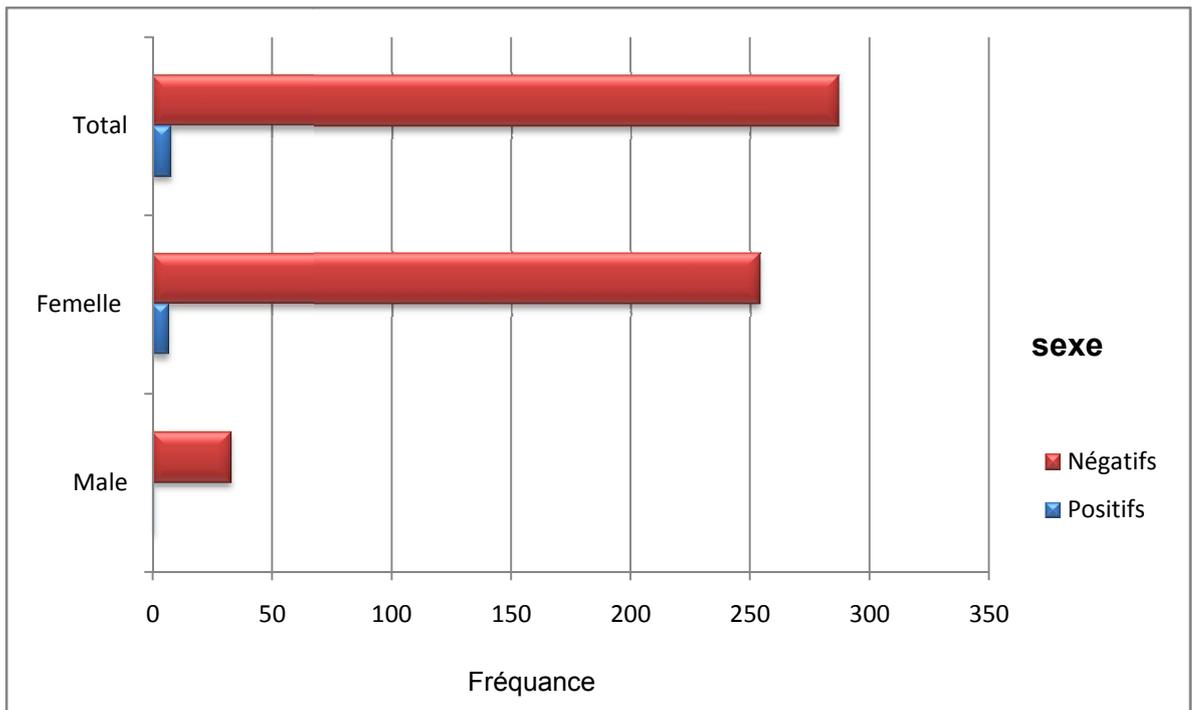


Figure 6.16 : Nombre de cas en fonction du sexe.

Sur un total de 295 prélèvements de sérum, 2.94 % (7 cas) issus des femelles ont eu un résultat positif (E.A.T), en contre partie 2.68 % (1 cas) issue des mâles était positifs. La comparaison de ces résultats par le test Chi2 corrigé de Yates donne un résultat non significatif ($p= 0.93$).

6.3.1.3. Répartition selon le type de bovins

Tout au long de notre travail diagnostique nous avons été exposés aux types de bovins suivants :

- Bovins d'importations : Montbiliard, flekveih, Holstein et brune des alpes
- Bovins améliorés : bovins croisés.
- Bovins local : race locale

Les résultats relatifs à la séropositivité de ces types sont rapportés dans le tableau 6.4.

Tableau 6.4 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction du type de bovins.

	Total (%)	Positif (%)	Négatif (%)
Bovins d'importation	201 (100)	5 (2,49)	196 (97,51)
Bovins croisés	80 (100)	3 (3,75)	77 (96,25)
Local	14 (100)	0 (0)	14 (100)
Total	295 (100)	8	287
Chi-2 corrigé de Yates	0.352		

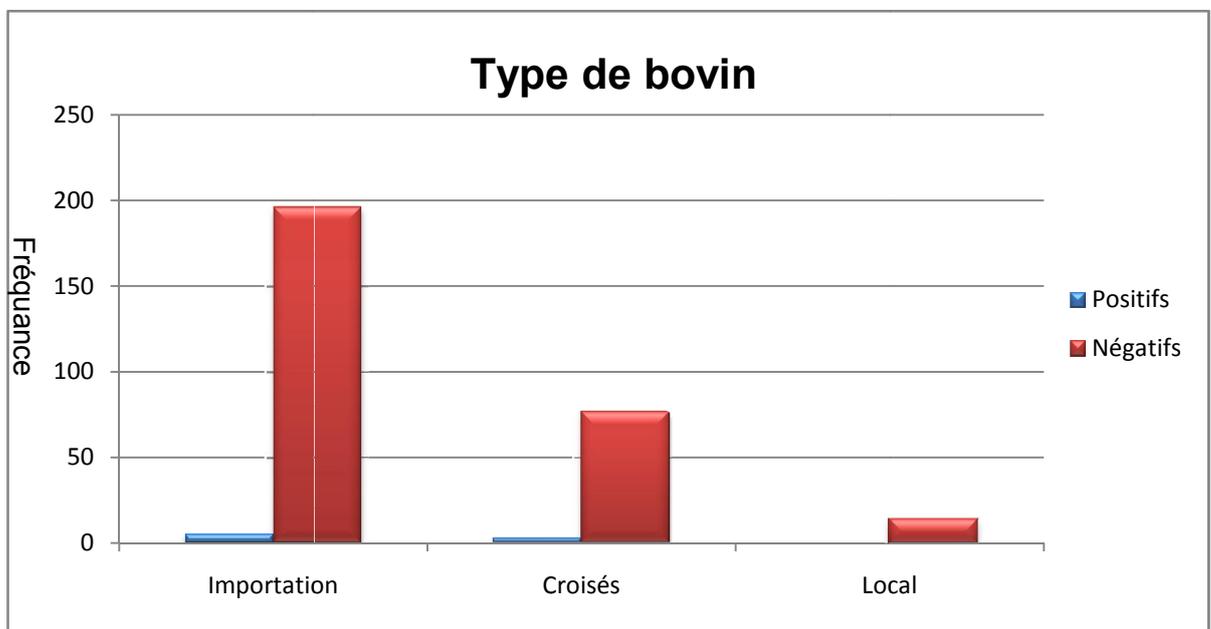


Figure 6.17 : Nombre de cas en fonction du type de bovins.

Parmi les 201 bovins d'importation analysés 5 était positifs soit une séroprévalence de 2,49%. Alors que chez les autres de type croisé au nombre de 80, 3 seulement étaient positifs. Cependant nous n'avons enregistré aucun bovin séropositif de race locale. L'analyse statistique par le Chi-2 corrigée de Yates n'a enregistré aucune différence significative entre les différents types avec un ($p=0.352$).

6.3.1.4. Répartition selon les cas d'avortement

Les résultats de la séropositivité en fonction des antécédents d'avortement chez les vaches prélevées sont rapportés dans le tableau 6.5

Tableau 6.5 : Répartition du nombre de bovins et les pourcentages associés en fonction d'antécédents d'avortements.

	Total (%)	Positifs (%)	Négatifs (%)
Avortées	23(100)	1 (4,34)	22 (95,65)
Non avortées	238(100)	6 (2,52)	232 (97,47)
Total	261(100)	7 (2,68)	254 (97.31)
Chi-2 corrigé de Yates	0.0003		

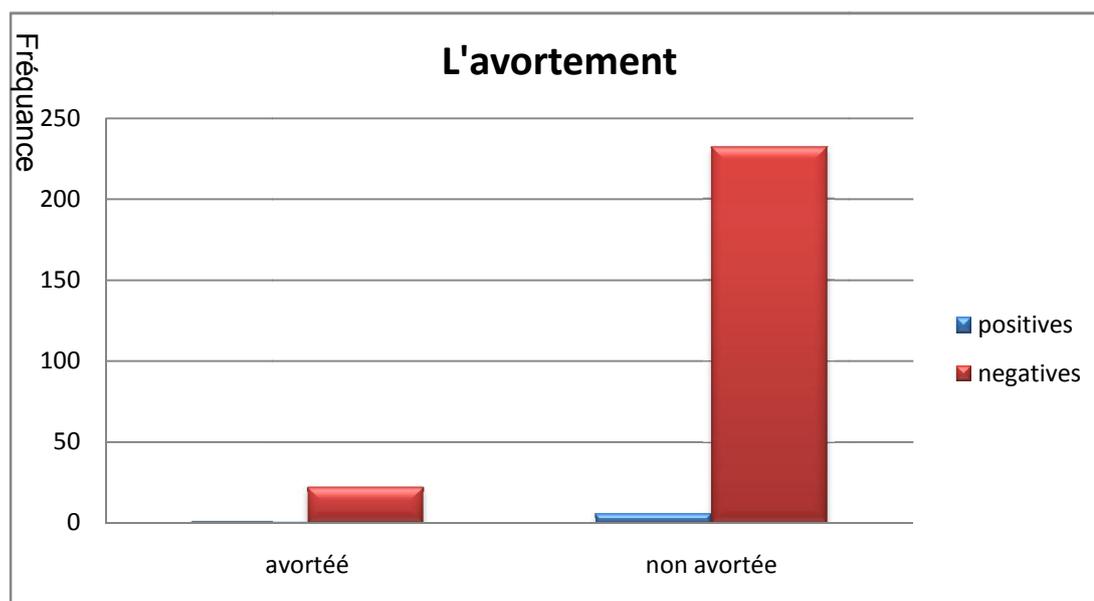


Figure 6.18 : Nombre de cas en fonction d'antécédents d'avortements.

Nos résultats montrent que parmi les vaches qui ont avortées (23 vaches), seulement une était positive (4,34%), alors que chez les vache indemne d'avortements, un taux de séropositivité équivalent à 2,59%(6 vaches) a été enregistré. L'analyse statistique a révélé une différence hautement significative (0.0003). L'état des vaches représenterait un facteur de risque pour la brucellose chez les bovins.

6.3.1.4. Représentation géographique des communes prélevées et distribution des foyers brucelliques dans les communes étudiées:

La distribution des communes prélevées ainsi que les foyers brucelliques sont représentés dans la figure (Figure 6.16).

Tableau 6.6. : Numéro et nombre de foyers pour chaque commune.

Numéro de commune	Nombre de Foyers	Numéro de communes	Nombre de foyers
1- Sedraya	0	10- Bousken	0
2-Meghraoua	0	11- Mfatha	0
3- Azizia	2	12- Saneg	1
4- Elgalb Elkbir	1	13- K.E.B	2
5- Sidi rabia	0	14- Ouled Antar	0
6- Bir Benabed	0	15- Oued Herbil	0
7- Djouab	0	16- Boughzzoul	1
8- Beni Slimane	0	17- Aziz	1
9- Sidi Naamane	0	18- Bouaich	0

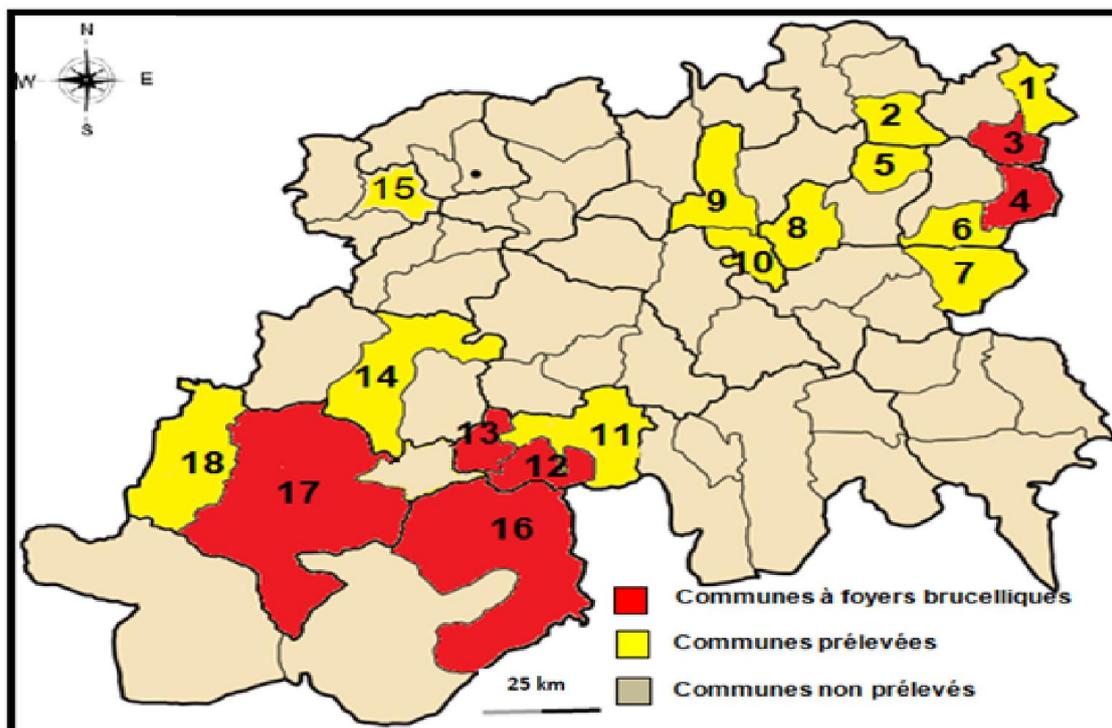


Figure 6.19 : distribution des foyers brucelliques dans la wilaya de Médéa.

Au cours de notre enquête nos prélèvements ont concerné 18 communes répartit en deux régions sur le territoire de la wilaya de Médéa. Ces dernières comptaient 10 communes dans la région de l'Est (Sedraya, Meghraoua, El azizia, Elgalb Elkbir, Sidi rabia, Bir Benabed, Djouab, Beni Slimane, Sidi Naamane et Bousken) et 8 dans la région de l'Ouest (Mfatha, Saneg, Ksar El Boukhari, Ouled Antar, Oued Herbil, Boughezzoul, Aziz et Bouaich). Nous Avons noté qu'au total 6 communes présentaient chacune au moins un foyer brucellique. Les communes au nombre de 4 englobant Boughezzoul, Saneg, Aziz et Elgalb Elkbir ne comportaient qu'un seul foyer alors que celles de Ksar Elboukhari et El Azizia en comptait 2. Pour cela on peut dire que la distribution des foyers brucelliques est beaucoup plus importante dans la région de l'Ouest.

6.4 Discussion

6.4.1. Méthodes et échantillonnage

Nous avons ciblé la wilaya de Médéa dans notre investigation, car dans cette dernière la brucellose humaine est toujours d'actualité avec une incidence annuelle de 88,3 cas (DSP Médéa). Même avec cette incidence très élevée de la brucellose humaine, en 2006 l'Etat a interrompu le programme dépistage/abattage instauré en 1995, dont le but est de collecter le maximum de lait afin de le pasteuriser par la suite, et d'adapter un autre programme qui est la vaccination des petits ruminants.

La région de Médéa est à vocation pastorale, augmentant ainsi le risque d'infection de l'être humain par cette maladie, dus au contact de la population avec les animaux infectés notamment l'espèce bovine (plus de 75000 têtes ; DSV Médéa).

La connaissance de la séroprévalence de la brucellose bovine à Médéa ne constitue pas seulement un objectif d'étude, mais un besoin de terrain pour élaborer d'éventuels programmes de lutte ciblés et adaptés à la réalité de notre terrain.

6.4.1.1. Echantillonnage

Nous avons procédé à un échantillonnage par commodité (empirique) a cause de :

- La non disponibilité d'une base de sondage (liste exhaustive) sur le nombre exacte et la distribution des élevages sur les différentes communes de la wilaya.
- Le manque de collaboration des services agricoles de la wilaya de Médéa, ce qui nous a empêchés d'accéder à certaines régions, et donc de ne pas pouvoir prélever les animaux sélectionnés dans notre plan d'échantillonnage.
- L'impossibilité d'accès à certains élevages à cause du refus manifesté par certains éleveurs constituant ainsi un facteur limitant pour l'étude.

Pour ce faire nous avons contacté plusieurs vétérinaires privés (18) repartis sur plusieurs communes, dont 8 ont refusé de participer à cette étude, soit un taux de refus de (44.44%). Nous avons pu visiter 68 élevages dont 10 ont refusé de faire des prélèvements soit un taux de refus de (14,70%).

Pour le calcul de la prévalence chez les bovins, la représentativité de notre échantillon est discutable, puisque comme nous l'avons déjà mentionné, la sélection des bovins prélevés n'a pas été aléatoire mais reposait sur les commodités de réalisation des prises de sang. Or les élevages les plus faciles à accéder sont aussi ceux qui sont le mieux surveillés par le dépistage, et les éleveurs les plus coopérants sont également ceux qui sont le plus suivis par les vétérinaires. Ainsi, le taux de couverture vaccinal est à priori meilleur et la prévalence de la brucellose plus faible dans ces troupeaux. La prévalence réelle est sans doute supérieure à celle observée durant notre étude.

6.4.1.2. Prélèvements et test utilisés

Nous avons fait nos prélèvements à partir de la veine jugulaire, qui est considérée comme la voie la plus pratiquée. Une fois arrivé au laboratoire, nous avons fait une centrifugation rapide pour éviter l'hémolyse, par la suite les sérums sont congelés à moins 20°C, ce qui contribue à la conservation du taux d'anticorps.

Nous avons utilisés le test de Rose Bengale comme un test de dépistage. Les taux de prévalence que nous avons calculé ne sont que des estimations, puisque le test de dépistage utilisé n'est pas un test parfait et qu'il laisse donc passer certains animaux infectés. En effet, d'après Garin-Bastuji [14], la spécificité du test Rose Bengale est estimée à au moins 99.95 % dans toute situation, mais sa sensibilité de 70-80% en moyenne, dépend surtout de la situation épidémiologique de la maladie [115, 75,116]. C'est une méthode plus sensible dans les pays où la maladie est contrôlée, car étant un test assez précoce, il détecte bien les nouveaux individus infectés. En revanche en situation d'enzootie sans contrôle réel, la proportion d'animaux infectés latents et chroniques est beaucoup plus importante et le Rose Bengale pourrait s'avérer moins sensible. En effet, le test Rose Bengale mis en évidence principalement les immunoglobulines

M (et un peu les IgG1 et IgG2), et celles-ci ne cessent de diminuer au cours du temps après une infection. Il est donc possible que le test ne détecte pas tous les animaux infectés chroniques, dont le taux d'immunoglobulines M est très faible. [125,117].

Concernant les tests de confirmation, le test de fixation du complément est effectivement recommandé par l'Office International des Epizooties comme test de confirmation. Cependant, c'est un test très difficile à réaliser et un agrément officiel de l'Office International des Epizooties est normalement nécessaire pour pouvoir valider sa réalisation dans un laboratoire [75].

6.4.2. Sérologie

6.4.2.1. Prévalence individuelle et troupeaux

Dans notre étude nous avons trouvé une séroprévalence cheptel bovin de 13,80 % et une séroprévalence individuelle de 2,71% avec le test (E.AT). Ces séroprévalences sont supérieures à celles rapportées par LOUNES en 2007 [118] dans la région centre d'Algérie, suite à une enquête auprès du laboratoire vétérinaire de Draa Ben Khedda et du laboratoire central d'Alger où il a utilisé les deux tests à la fois le (E.A.T) d'orientation et la FC pour la confirmation. LOUNES [118] a enregistré chez les bovins une prévalence cheptel de 3% et une séroprévalence individuelle de 0,81% (0,12 à 2,82%), alors que le taux national en 2009 était de 0.92 % [135]. Par ailleurs une étude menée dans la Wilaya de Taref par BOUZID *et al.* en 2010 [119], a révélée une séroprévalence variant entre 10% et 40%, selon la région, avoisinant celle trouvée par AGGAD *et al.* en 2006 (26,3%) [120].

Dans les pays voisins, en Tunisie et en Lybie par des études menées par REFAI *et al.* en 2002 et EL-SNOUSSI *et al.* en 1985 respectivement [121,122], ont trouvé une séroprévalence supérieure à celle observée dans notre étude (5%).

Cette discordance peut être expliquée par le type et le mode d'élevage, les stratégies de lutte utilisées pour l'éradication de cette maladie et même les tests de dépistage utilisés qui varient d'une région à une autre.

La brucellose est considérée comme une maladie extrêmement insidieuse, demandant beaucoup d'attention pour un bon diagnostic et aucun test n'est seul capable de donner un diagnostic concluant, révélant tous les cas positifs [45], et aucun test n'a une sensibilité et une spécificité de 100% [123]. Les faux positifs constituent un véritable handicap et un problème majeur pour le diagnostic de la brucellose et son éradication. Vu la faible spécificité de l'EAT, il aurait fallu une confirmation des résultats positifs par le test de fixation du complément; nous n'avons pas pu faire ce test à cause de problèmes logistiques rencontrés au laboratoire, comme le refus des responsables d'accepter les étudiants chercheurs au sein des laboratoires de confirmation (Laboratoire National de médecine Vétérinaire, Laboratoire Régional de Draa Benkhada, Laboratoire Régional de Laghouat).

6.4.2.2. Facteurs de risque

6.4.2.2.1. L'âge

La prévalence augmente nettement avec l'âge. Une différence très significative enregistré entre les animaux de 2 ans et ceux âgés de plus de > 8 ans ($p < 0,05$) a été observé par le test Chi-2 corrigé de Yates. Les mêmes observations ont été rapportées par BOUZID *et al* en 2010 [119].

De nombreux auteurs ont rapporté que l'infection à *Brucella* est beaucoup moins fréquente chez les jeunes bovins que chez les adultes [116], [118], [119]. Ceci a été constaté dans notre analyse et confirmé par nos résultats. En effet les bovins âgés de moins de 2 ans ont exprimé une prévalence presque égale à celle des bovins adultes âgés entre 2 et 5 ans qui est de 1% et 0.99% respectivement. Cependant les plus âgés (de plus ≥ 5 ans), ont montré la prévalence la plus élevée 10,09 %. Ces prévalences élevées chez les bovins âgés pourraient être expliquées par le fait, d'une part, que plus l'animal vieillit plus il s'expose à des infections et devenir ainsi contagieux [42].

D'autre part la littérature explique que les jeunes animaux pré-pubères qui sont infectés par la brucellose ne sont pas détectés par les méthodes sérologiques car le taux d'anticorps est très faible et ne devient détectable

qu'après la première gestation [14]. Ce qui peut expliquer le faible taux d'animaux jeunes détectés. En effet, si l'animal jeune impubère est bien réceptif, sa sensibilité à l'infection est nulle, la maladie n'étant jamais exprimée durant cette période. En revanche, la période post pubère, notamment chez l'animal gestant, est la période de sensibilité maximale [49].

Les jeunes mâles et femelles âgés de moins de six mois ne sont pas très sensibles et ne connaissent généralement qu'une infection passagère [16, 95].

6.4.2.2. 2. Sexe

Le test de Chi-2 corrigé de Yates, que nous avons appliqué pour voir s'il y avait une différence de séropositivité entre les mâles et les femelles, a montré que le risque d'être infecté est identique quelque soit le sexe ($p = 0,93$). Ces résultats corroborent avec ceux rapportés par AKAKPO et collaborateurs en 1984 au Togo et au Benin [124], TURKSON et BOADU en 1992 [125] et MUSA et SHIGIDI en 2001 [126], qui n'ont observé aucune différence significative dans la prévalence entre les mâles et les femelles. Cependant, d'autres études, TRAORE *et al.* 2004 [127] ; FAYE *et al.* en 2005 [128] ont trouvé une nette prédominance chez les femelles par rapport aux mâles. Par ailleurs, CHIMANA et collaborateurs en 2010 [129], ont trouvé une séroprévalence de la brucellose significativement plus élevée chez les mâles que chez les femelles.

6.4.2.2.3. Les antécédents d'avortement

Dans notre étude, l'existence d'antécédents d'avortements dans l'élevage constituerait un facteur de risque dans la propagation de la maladie. Le test corrigé de Yates a montré une différence significative ($p=0.0003$). On a noté que sur les 23 vaches qui avaient des antécédents d'avortements dans l'élevage, une était séropositive. Ce qui représente un pourcentage de 4,34%.

L'avortement est la source majeure de dissémination de l'infection aux congénères, aux autres espèces et à l'homme [24,49, 95]. Lors d'un avortement, une vache excrète jusqu'à 10¹² à 10¹³ *Brucella*.

Dans nos résultats du questionnaire nous avons rencontré 16 élevages bovins (27,59%) qui présentaient des antécédents d'avortements, parmi ces derniers 4 étaient séropositifs; ce qui représente un taux de 25%.

DECHICHA *et al.* [130] ont rapporté un taux plus important de cas d'avortement chez des bovins (43,7%) en étant séropositifs, et rapporte que la brucellose pourrait être responsable de la moitié des cas d'avortements infectieux.

LOUNES [118] a trouvé un taux de 2,22 % chez les vaches avec des antécédents d'avortements, qui est un taux proche de celui observé dans notre étude. Un taux un peu plus faible (11%) au sein des élevages qui présentaient des avortements a été noté par le même auteur. En Inde, ISLOOR *et al* [131] rapportent que dans les élevages ayant connu des cas d'avortement, le taux de prévalence était de 17%.

6.4.2.2. 4. La Région

D'après notre étude, on pourrait être menés à dire que la brucellose bovine à une distribution géographique presque identique au niveau de toutes les communes, on remarque qu'il y a 4 communes qui présentent un seul foyer brucellique à savoir (Boughzoul, Saneg, Aziz et Elgalb Elkbir) et 2 communes (Ksar Elboukhari et El Azizia) présentent 2 foyers brucelliques (Figure 6.16). On remarque que la région de l'Ouest de la wilaya de Médéa est la plus touchée (4 communes) par rapport à la région de l'Est (2 communes). Ceci s'expliquerait par le mode d'élevage qui est beaucoup plus mixte dans la région de l'Ouest (ovins et caprins). Cette dernière étant une région steppique où les éleveurs préféreraient les élevages mixtes, qui selon LOPEZ-MERINO *et al.* en 1989 [132] augmenteraient le risque d'infection des bovins avec *B. melitensis*. D'autres auteurs, JIMENEZ *et al.* VERGER [133], [134] soutiennent cette hypothèse qui stipule que chez les bovins qui sont maintenus en étroite cohabitation avec des ovins ou les caprins, l'infection pourrait aussi être causée par *B. melitensis*.

6.5. Conclusion

Notre étude s'est étalée sur une période de 4 mois d'investigation, elle avait pour objectif d'estimer la séroprévalence de la brucellose bovine dans la région de Médéa (région rurale par excellence), d'évaluer les facteurs de risque ainsi que la répartition géographique des différents foyers de brucellose bovine dans la région d'étude. Nous sommes arrivés aux conclusions suivantes :

La brucellose bovine est toujours présente dans les élevages de la wilaya de Médéa, dont 2,71% \pm 1.81 des bovins prélevés sont séropositifs, et 13,80% des élevages présentent au moins un bovin positif. Cela malgré les efforts de l'état pour éradiquer cette grave zoonose qui a des conséquences graves de par ses répercussions économiques et sanitaires.

La majorité des cas qui se sont révélés positifs (7 bovins) étaient des femelles de type d'importation avec des antécédents d'avortements dont l'âge était supérieur à 8 ans.

La distribution de la brucellose bovine est variable selon les communes, il semblerait que la région de l'Ouest de la wilaya de Médéa soit la plus touchée avec 5 foyers brucelliques, alors que la région de l'Est ne présente que 3 foyers.

Notre enquête révèle aussi la méconnaissance quasi-totale de cette maladie au sein du milieu des éleveurs, ce qui explique l'omniprésence de cette dernière et ses conséquences sur la santé de l'homme malheureusement toujours victime de ce fléau. Cette situation immuable au sein de notre région n'est que le reflet d'un dysfonctionnement avéré aussi bien du système de surveillance épidémiologique ainsi que des moyens médicaux et sanitaires mis en œuvre dans le but de prévenir et de diagnostiquer les animaux malades. Toutes ses démarches mise en œuvre, manquent cependant de rigueur et de perspicacité avec une absence systématique de suivi des cas diagnostiqués positifs ou de filiation de ses derniers. Ceci est le plus souvent assigné à un manque de transparence du milieu des éleveurs de par leur inconscience et surtout leur ignorance.

Le manque de contrôle du mouvement des animaux, conjugué à leur non identification et le faible taux d'indemnisation, appliqué en plus seulement pour certaines espèces, restent un facteur limitant face au programme de prophylaxie contre la brucellose en Algérie.

CHAPITRE 07

ETUDE III : LA RECHERCHE DES ÉVENTUELLES LÉSIONS CHEZ DES VACHES BRUCELLIQUES DANS DEUX ABATTOIRS (MEDEA ET EL AZIZIA)

Objectifs

Afin de mieux connaître la situation de la brucellose bovine dans les abattoirs de Médéa, nous avons fixé les objectifs suivants :

- L'estimation de la séroprévalence de la brucellose chez les vaches abattues dans deux abattoirs à savoir Médéa et El Azizia.
- La recherche des éventuelles lésions chez les vaches sérologiquement positives dans les ganglions supramammaires et rétro-pharyngiens.

7.1. Matériels et méthodes

7.1.1. Lieu et période d'étude

Afin d'atteindre les objectifs visés, une étude sérologique et histopathologique au sein de deux abattoirs dans la Wilaya de Médéa, à savoir (l'abattoir communal de Médéa et El Azizia), est réalisée du 14 Février au 16 Mai 2015.

L'abattoir de Médéa se situe, a la sortie de Médéa, allant vers Ain- Defla, à coté de la route nationale N° 18.

L'abattoir d'El Azizia se situe à au centre de ville de la commune de ElAzizia coté de la ville d'El Azizia, à côté d'Oued Zeghoua.



Figure 7.1 : Plan de la situation géographique des deux abattoirs (Médéa à gauche, El Azizia à droite) [136].

7.1.2. Population étudiée

Nous avons mené une étude sur toutes les femelles bovines (225 têtes) présentées aux deux abattoirs du 14 Février au 16 mai 2015.

7.1.3. Matériels

- Nous avons utilisé des tubes secs vacutainers, aiguilles vacutainers, et un embout vacutainer (adaptateur) pour faire les prélèvements chez les bovins ; ainsi que des pots stériles pour prélever les ganglions rétro- pharyngiens et supra mammaires.
- afin d'éviter la dénaturation des échantillons prélevés ils ont été transportés dans une glacière adaptée (un portoir des tubes et des plaques-icebox congelées) jusqu'aux laboratoires de microbiologie et d'histopathologie au sein de l'université de Médéa.

- **Sérologie :**

Après le port d'une blouse, nous avons utilisé le matériel suivant : centrifugeuse, Micropipette pasteur, cônes en plastiques, eppendorfs, congélateur, le réactif de rose Bengale (Se 100%, Sp 98%) standardisé envers la deuxième préparation internationale, et dans la même boîte de ce réactif, on trouve des plaques à usage unique, bâtonnets en plastique.

- **L'histopathologie :**

Nous avons utilisé le matériel suivant :

Matériel de dissection, gants, les cassettes, minuterie, moules d'inclusion, bain histologique, cuve à 64°, étuve 37°, réfrigérateur, lames et lamelles, bain marie, platine histologique (séchage des lames), microtome (Leica RM2125 RTS).

III.1.4. Méthodes

III.1.4.1. Inspection ante mortem

Une inspection pour déterminer l'âge, la race, est effectuée :

Nous avons défini 3 types des bovins :

- Les bovins d'importation (Montbéliarde, fleckvieh, prim'holstein)
- Les bovins locaux sont de petite taille, avec une robe de couleur uniforme.
- Les bovins croisés présentent une coloration de robe pie rouge ou pie noir.

7.1.4.2. Prélèvements

- **Sang** : Nous avons réalisé des prélèvements sanguins. Le sang est prélevé à la veine jugulaire ou la veine coccygienne selon les commodités dans des tubes secs, ou remplissage des tubes au moment de l'égorgeage pour les bovins difficiles à prélever, à 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 (l'âge, la race et diagnostic de gestation). Les prélèvements sont acheminés dans une glacière vers le laboratoire pour l'analyse sérologique.
- **Ganglions** : Nous avons récolté les ganglions rétro-pharyngiens et supramammaires de chaque femelle, conservé dans le formol à 10%, puis acheminés vers le laboratoire d'histopathologie au niveau de l'université de Médéa.

7.1.4.3. Diagnostic de gestation

Afin d'effectuer un diagnostic de gestation, nous avons adopté la vérification de la matrice après l'abattage.

7.1.4.4. Analyse sérologique des prélèvements (Chapitre 06, page 91)

7.1.4.5. Etude histopathologique des ganglions

- **La Fixation**

Le principe de la fixation est de maintenir les constituants tissulaires et cellulaires les plus proches possibles de l'état vivant. Pour notre étude nous avons utilisé le formol à une concentration de 10%.



Photo 7.2. : La fixation des ganglions dans le formol a 10%.

(Photo personnelle)

- **La déshydratation et l'éclaircissement**

Avant la déshydratation, les pièces fixées dans le formol à 10% sont lavées sous l'eau courante. Elles sont ensuite déshydratées par un passage successif dans 8 bains d'alcool éthylique à concentrations croissantes :

- 02 bains à 50° pendant 1 heure.
- 02 bains à 70° pendant 1 heure.
- 02 bains à 90° pendant 1 heure.
- 02 bains à 100° pendant 1 heure.

L'éclaircissement des pièces dans un bain de toluène pendant une heure, permet l'élimination de l'alcool et la préparation à l'imprégnation à la paraffine



Photo 7.3. : Identification des cassettes
(Photo personnelle).



Photo 7.4 : Les bains de déshydratation
(Photo personnelle).

- **L'imprégnation et coulage des blocs de paraffine :**

Les pièces placées dans un mélange de 50% de toluène et 50% de paraffine sont mis a l'étuve (56°) afin d'initier l'infiltration dans la paraffine et cela pour une durée d'une heure. Les échantillons récupérés sont mis dans des cassettes numérotées puis plongés dans deux bains de paraffine fondue, le premier pendant une heure et le seconde 11 heures. Les pièces sont mises dans blocs de paraffine, laissés solidifier pendant une durée de 3 heures.



Photo 7.5 : Etuve pour la paraffine fondue
(Photo personnelle).

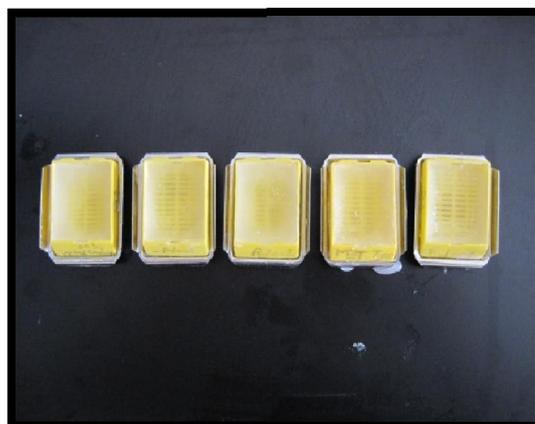


Photo 7.6 : Inclusion dans les blocks
(Photo personnelle).

- **Réalisation des coupes**

Cette opération a été réalisée à l'aide d'un microtome de type Leica RM2125 RTS, qui consiste à débiter en tranches fines de quelques microns (4-5 μm) les fragments d'organes inclus dans la paraffine. Chaque ruban de coupe est étalé dans un bain marin (37°), puis sur une lame, et vers la fin ils sont séchés pendant 24h dans une étuve à 37°. Les lames sont gardées dans des boîtes à l'abri de la poussière.



Photo 7.7 : Réalisation des coupes par le microtome (Photo personnelle)



Photo 7.8 : Séchage des lames (Photo personnelle)

- **La coloration**

Le but de la coloration histologique est la différenciation optique qui consiste à faire ressortir des constituants déterminés de la préparation microscopique. La coloration effectuée est celle d'Hématoxyline-Eosine. Les différentes étapes de la coloration sont décrites ci-dessous :

- Avant la coloration on procède au déparaffinage des coupes en plongeant les lames dans deux bains successifs de toluène pendant une minute pour chaque bain.
- Réhydratation des coupes avec de l'alcool éthylique à concentrations décroissantes : un bain à 100°. un bain à 90°, un bain 70° pendant 30 secondes pour chaque bain puis à l'eau courante pendant une minute.
- Coloration à l'éosine pendant 2 minutes.

- Le montage des coupes entre lame et lamelle se fait selon le procédé suivant :
- Déshydrater à l'alcool éthylique à degré croissant : 70°, 90°, 100° pendant 30 secondes pour chaque bain.
- Eclaircir avec deux bains de toluène pendant une minute chacun.
- Après le dernier bain de toluène, les étiquetées sont séchées dans une étuve à 37°C pendant 24h.

7.2. Résultats

7.2.1. Prévalence de la brucellose

Notre étude réalisée au sein des abattoirs de Médéa et d'el Azizia, s'étale sur une période de 92 jours au total. La moyenne des femelles prélevées par jour est de 8 (7 – 9).

7.2.1.1. La prévalence apparente totale

Le test au Rose Bengale que nous avons utilisé sur 225 vaches, a révélé un taux de prévalence de l'infection de $11,11 \pm 0.22$ %, avec un nombre de 25 cas. Toutes les vaches sont incluses dans l'étude.

7.2.1.1. La prévalence apparente des deux abattoirs

Sur les 225 prélèvements, 200 vaches étaient au niveau de l'abattoir d'El Azizia et seulement 25 au niveau de l'abattoir communal de Médéa. Le résultat d'analyse sérologique est montré dans le tableau 7.1.

Tableau 7.1 : Nombre de bovins positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des troupeaux.

	Total (%)	Positif (%)	Négatifs (%)
El Azizia	200(100)	22 (11)	178 (89)
Médéa	25(100)	3 (12)	22 (88)
Chi-2 corrigé de Yates.	0.326		

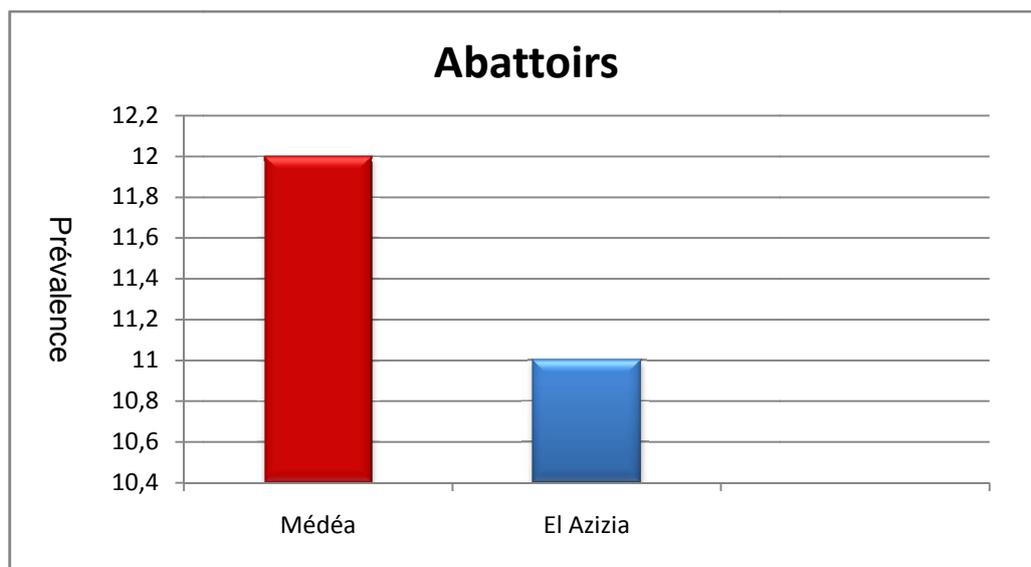


Figure 7.9. : Prévalence apparente dans les deux abattoirs, Médéa et El Azizia.

Nous avons prélevé 200 vaches au niveau de l'abattoir d'El Azizia ; dont 23 (11%) était positives, et 25 vaches dans l'abattoir de Médéa, 3 (12%) ont eu une réponse positive au test de E.A.T. Le test statistique de Khi-2 corrigé de Yates n'a montré aucune différence significative entre les deux abattoirs.

7.2.1.2. Estimation de La prévalence réelle

L'estimation de la prévalence réelle se fait par la formule suivante [112]:
 Taux de prévalence réelle = $(\text{Taux de prévalence apparente} + (\text{Sp} - 1)) / (\text{Se} + \text{Sp} - 1)$
 Sachant que Se et Sp sont la sensibilité et la spécificité du test de dépistage.
 Pour cela la prévalence réelle de l'infection est de 11,31% ± 0.22.

7.2.1.3. Taux de positivité en fonction des caractéristiques des femelles prélevées

Le résultat de dépistage sérologique des 225 vaches prélevées à l'abattoir de Médéa et El Azizia durant une période de 10 semaines, est de 25 bovins séropositifs, soit une prévalence de 11,11 %.

Tableau 7.2: Prévalence de la brucellose en fonction des caractéristiques des bovins prélevés.

Caractéristiques des vaches	variables	Population (n)	Nombre de cas positifs	Prévalence (%)	P (khi-2)
Type	Bovins d'importation	37	2	5,40	0.1804
	Croisée	181	21	11,60	
	Locale	7	2	28,57	
Age	2 – 5 ans	110	18	16,36	0.0142
	≥ 5 ans	115	7	6,08	
Gestation	Oui	36	4	11,11	0.90
	Non	189	21	11,11	

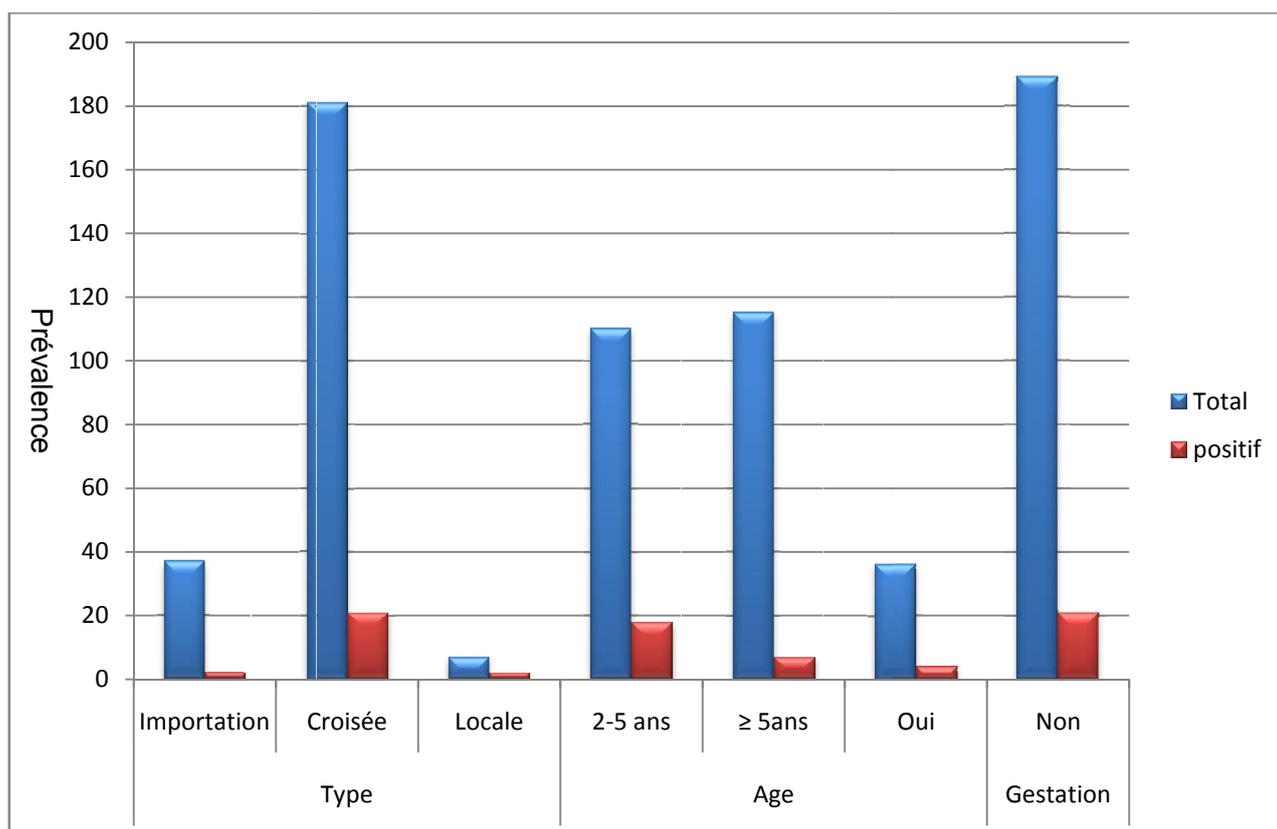


Figure 7.10. : Prévalence de la brucellose en fonction des caractéristiques de vaches prélevées.

Sur un total de 225 prélèvements de sérum, 25 était séropositives au test de (E.A.T), 2 (5,40 %), 21(11,60%), 2 (28,57%) sont des bovins d'importation ; croisées et locale respectivement. La répartition selon l'âge a montré que la plus part des vaches séropositives sont celles âgées entre 2-5 ans 18 (16,36%). Pour les vaches âgées de plus de 5 ans nous n'avons enregistré que 7 (6,08%) cas. Nous avons observé aussi que 21 (11,11%) des vaches n'étaient pas gestantes et que 4 (11,11%) seulement l'étaient. Le test statistique Khi-2 a montré une différence significative pour l'âge ($P=0.0142$), cependant y a aucune différence pour le type de bovin et l'état de gravidité.

7.2.2. Résultats de l'analyse histopathologique

L'analyse histopathologique des ganglions lymphatiques supramammaires et retro-pharyngées des vaches diagnostiquées séropositives au rose Bengale, présente en majorité un tableau lésionnel typique du ganglion réactionnel. Ce dernier se manifeste par une hyperplasie lymphocytaire aussi bien au niveau corticale que paracorticale, ceci s'observe à la déhiscence folliculaire survenant immédiatement après une phase d'élargissement du centre germinale du follicule preuve inéluctable d'une hyperplasie des lymphocytes B ; les lymphocytes T quant à eux s'hyperplasient à leur tour au niveau de la paracorticale, leur lieu de prédilection où une fois mis en contact avec une cellule dendritique ils seront apte à migrer vers la zone corticale à la recherche des lymphocytes B exprimant les mêmes antigènes afin d'initier la deuxième phase de synthèse des Anticorps, sachant que les premiers anticorps ont été synthétisés au début de l'infection après contact des antigènes avec les cellules B. Ce mécanisme de recherche et d'identification des antigènes similaires portés par les deux types de lymphocytes B et T explique l'aspect hyperplasique du ganglion avec perte de limites histologiques entre la corticale et la paracorticale.

Par ailleurs un cas de ganglion présentant des lésions chroniques à été observé. Il s'agit principalement d'une lésion inflammatoire granulomateuse typique. Cette dernière se caractérise par la présence de cellules géantes typiques à centre éosinophile contenant des noyaux disposés en couronne et larguées en périphérie. Ces dernières sont dispersées au sein d'un stroma envahis par des cellules épithélioïdes ou macrophages hyper activés délimités par une infiltration massive souvent périphérique de lymphocytes (voir photos légendés) accompagnée de remaniement libro- prolifératifs. Une nécrose centrale est parfois observée (photo). Cependant les structures corticales et paracorticales ont disparues laissant place à un tissu syncytiale principalement formé de lymphocytes aisément identifiables et probablement d'autres types de cellules inflammatoires difficilement identifiables nécessitant souvent une identification par immunohistochimie. Cette entité inflammatoire typique de la brucellose décrite ci-dessous est le granulome de Bang.

A la différence des ganglions de contrôle les ganglions positifs, présentaient des changements morphologiques et structuraux caractéristiques illustrés et légendés sur les observations ci- dessous.

7.2.2.1. Ganglion de contrôle (sain)

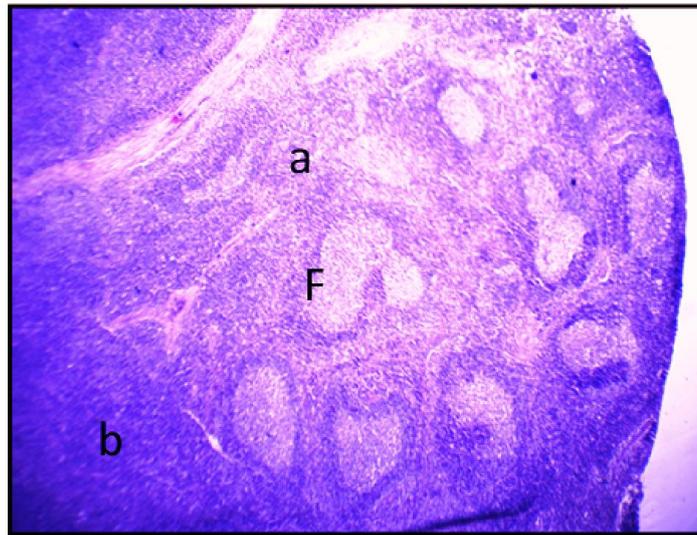


Figure 7.11. : Ganglion de control 40xg (Photo personnel)

Ganglion de control 40xg : (a) zone corticale et para corticale d'un ganglion lymphatique avec présence au niveau cortical de follicule (F) à zone proliférative centrale claire et périphérique sombre (manteau). (b) zone paracorticale à stroma diffus contenant des lymphocytes peu visibles à ce grossissement. Il est à noter que la zone corticale et paracorticale sont remarquablement isolés et individualisées signant des limites histologiques claires.

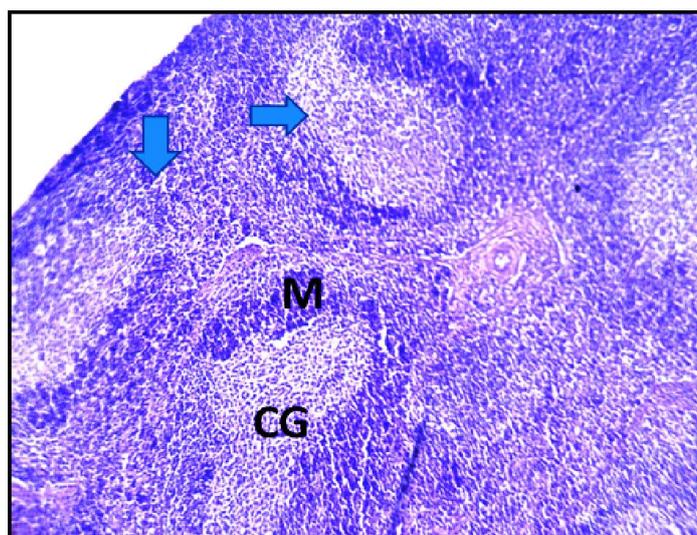


Figure 7.12. : Ganglion de control 100xg (Photo personnel).

Ganglion de control sain 100xg : Détails de la zone corticale avec des follicules lymphoïdes à centre germinatif (CG) claire coiffés d'un manteau sombre (M) constitué de lymphocytes B immatures.

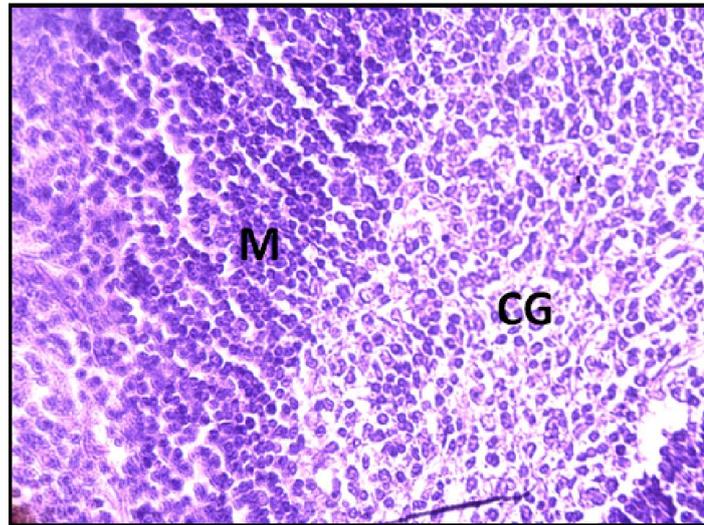


Figure 7.13. : Ganglion de control 400xg (Photo personnel).

Ganglion de control 400xg : détails du centre germinatif (CG) montrant une concentration lymphocytaire à aspect claire délimitée par une zone plus foncée (asterix) elle même formée d'une population lymphocytaire immature. L'aspect du noyau étant révélateur de l'état d'activité cellulaire (un noyau claire signe un état de synthèse).

7.2.2.2. Remaniements lymphocytaires de la phase aigue et subaigüe

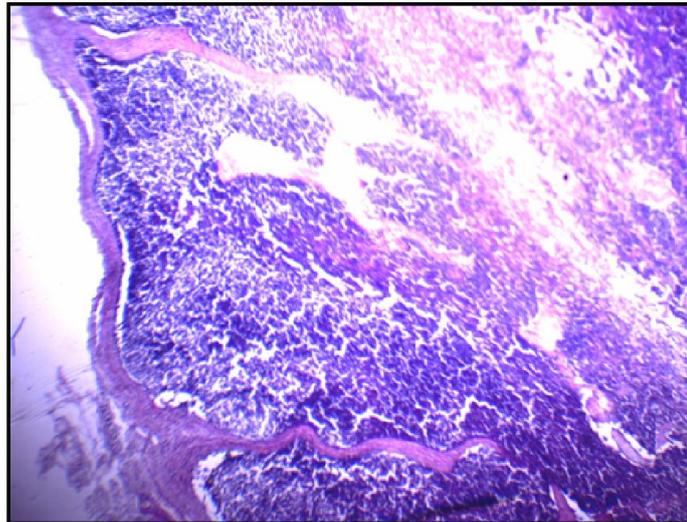


Figure 7.14. : Ganglion prolifératif phase aigue ou subaigüe 40x g
(Photo personnel).

Ganglion prolifératif phase aigue ou subaigüe 40x g : Remarquez la disparition des follicules lymphoïdes initialement observés lors du ganglion de contrôle au niveau corticale et uniformisation du stroma ganglionnaire.

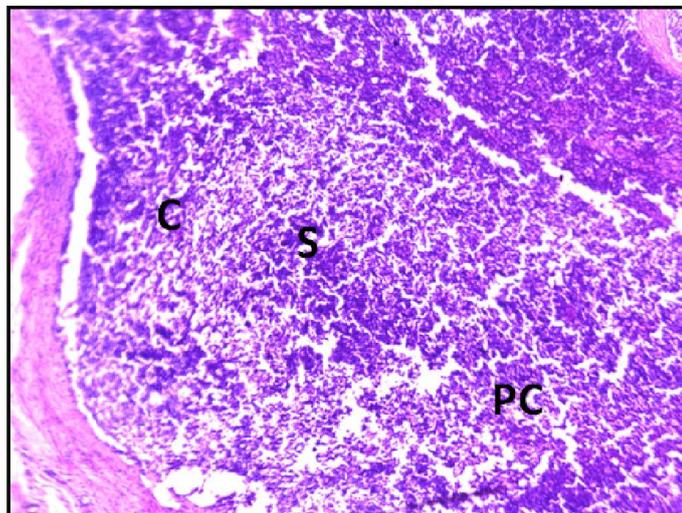


Figure 7.15. : Ganglion hyperplasique 100xg (Photo personnel).

Ganglion hyperplasique 100xg : Hyperplasie lymphoïde et disparition des structures folliculaires corticales avec effacement des limites entre la corticale et paracorticale ; notez l'hyperplasie cellulaire au niveau du stroma.

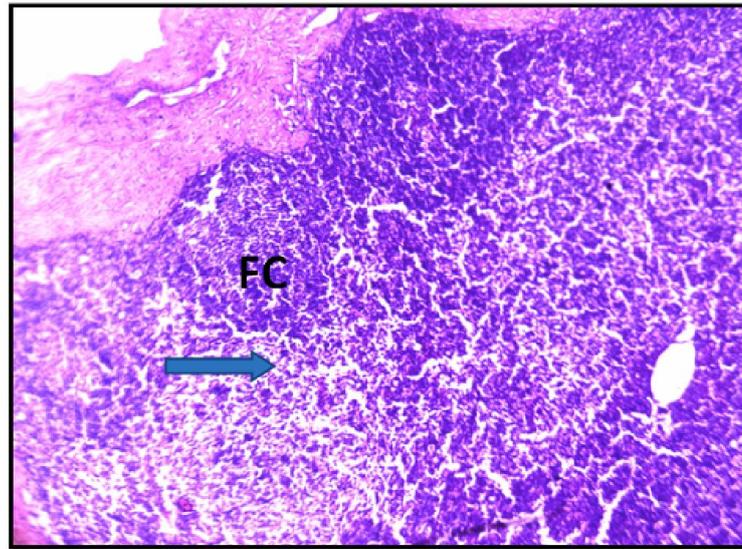


Figure 7.16. : Ganglion réactionnel 100xg (Photo personnel).

Ganglion réactionnel 100xg: Siège d'une adénopathie réactionnelle. Follicules corticaux déhiscent (FC) et début de l'envahissement corticale disparition de l'interface cortico paracorticale (flèche).

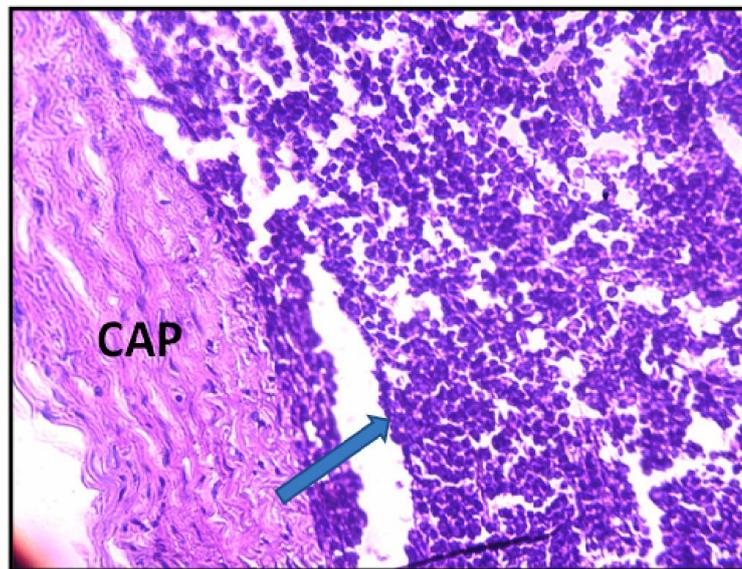


Figure 7.17. : Ganglion réactionnel 400xg (Photo personnel).

Ganglion réactionnel 400xg : Détails de la zone sous corticale démontrant une hyperplasie lymphocytaire avec disparition totale des structures histologiques originelles

7.2.2.3. Remaniements cellulaires de la phase chronique

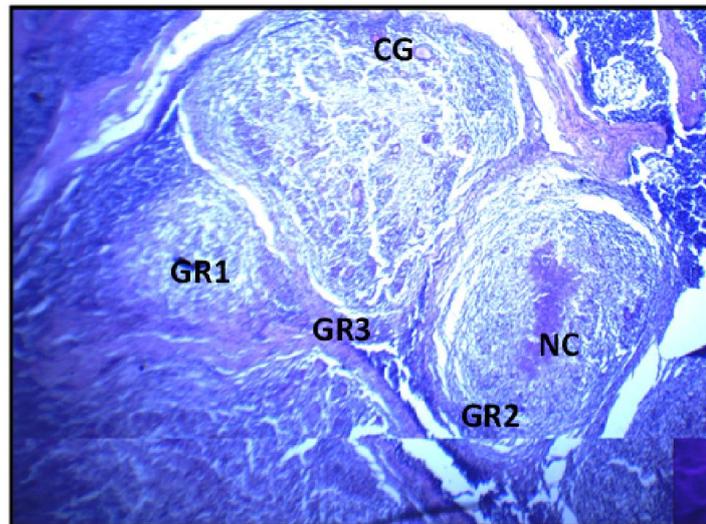


Figure 7.18. : Ganglion siège d'un granulome inflammatoire 40xg
(Photo personnel).

Ganglion siège d'un granulome inflammatoire 40xg : notez la présence d'une nécrose centrale au niveau du granulome GR3 et des cellules géantes bien apparentes au niveau du GR2.

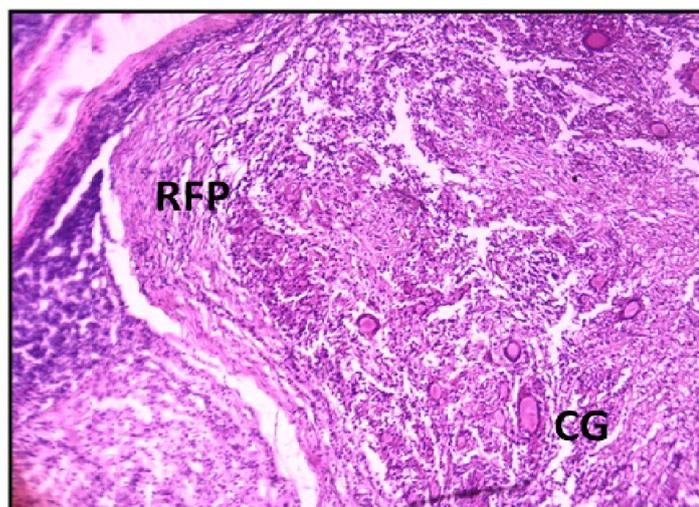


Figure 7.19. : Détails du granulome de Bang100xg (Photo personnel).

Détails du granulome de Bang100xg : notez l'infiltration lymphocytaire (LYM) les remaniements fibroprolifératifs (RFP) en périphérie du granulome. Présence de plusieurs cellules géantes(CG)

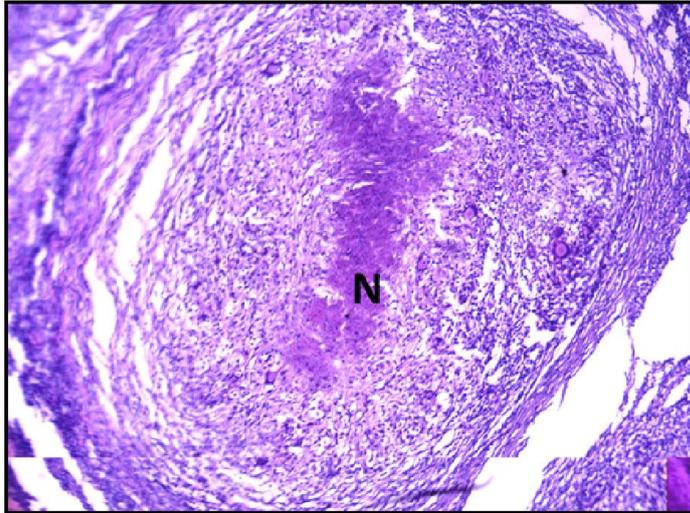


Figure 7.20. : Granulome de Bang à centre nécrotique (N) 100xg
(Photo personnel).

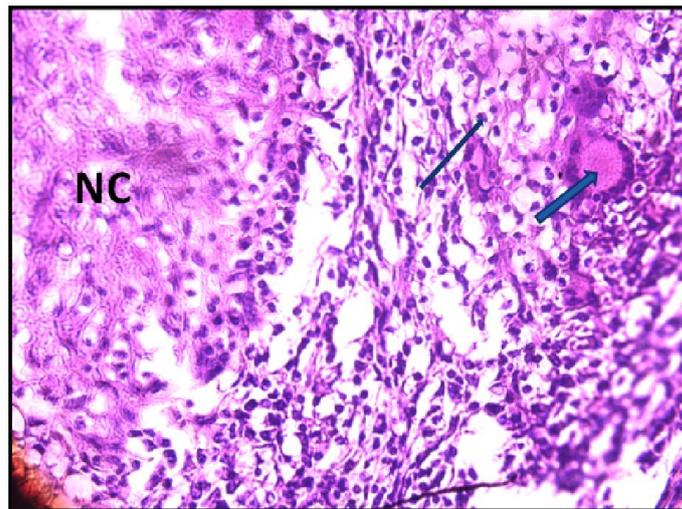


Figure 7.21. : Granulome de Bang 400xg (Photo personnel).

Granulome de Bang 400xg : Cellule géante(CG) et cellules épithélioïdes(CE) au sein du granulome inflammatoire.

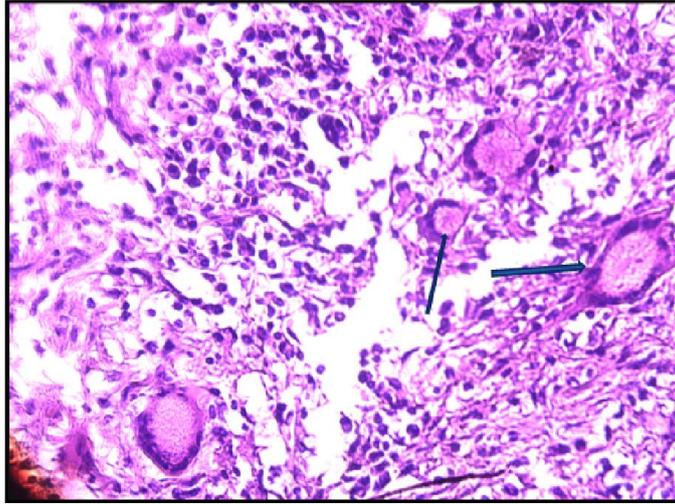


Figure 7.22. : Granulome de Bang 400xg (Photo personnel).

Granulome de Bang 400xg : Ensemble de cellules géantes à centre éosinophiles au sein du granulome brucellique de Bang.

7. 3. Discussion :

Avant de discuter les résultats obtenus lors de l'analyse sérologique et histopathologique, nous avons jugé utile de passer en revue les conditions d'abattage au niveau des deux abattoirs de Médéa et d'El Azizia respectivement :

- Les animaux qui arrivent vivants à l'abattoir sont toujours transportés dans des camions qui ne possèdent ni de toiture ni de bâches pour protéger les animaux du vent, du froid ainsi que de la pluie, ce qui peut stresser les animaux.

- Toutes les opérations d'abattage se font en poste fixe (en un seul et même endroit) ; il n'y a pas de séparation entre les opérations sales et les opérations propres, ce qui a pour effet d'augmenter le risque de contamination des carcasses.

- Pendant les jours de grande charge d'abattage (samedi, mardi), les animaux vivants sont présents à l'intérieur de la salle en même temps que les carcasses, ce qui contribue également à la contamination de la viande.

- L'abattage sanitaire se fait au même temps que l'abattage de salubrité.

Ces remarques nous permettent d'avancer que les deux abattoirs sont favorables à la contamination des viandes à toutes les étapes de l'abattage, ce qui se répercute incontestablement sur la qualité ainsi que la salubrité de la viande.

L'objectif de la présente étude était l'estimation de la séroprévalence brucellique chez l'espèce bovine et la recherche des éventuelles lésions chez les vaches positives au test de rose Bengale (E.A.T), pour cela un échantillon de 225 prévenant de deux abattoirs (Médéa, El Azizia), durant une période allant de Février à mai (2015) ont été effectués, 25 prélèvements étaient positifs au rose Bengale (E.A.T) soit une séroprévalence de $(11.11 \pm 2,09 \%)$.

La prévalence enregistrée dans notre étude est de $11,11 \pm 2,09 \%$, elle est supérieure à celle trouvée par AKKOU ($4,56 \pm 0,43\%$), en 2011 [137], et LOUNES ($0,81\%$) en 2007 [118], lors d'une enquête effectuée au niveau de l'abattoir d'El-

Harrach concernant les vaches de réforme, associée à une étude faite au centre d'Algérie. Les échantillons issus des prélèvements ont été envoyés au laboratoire vétérinaire de Draa Ben Khedda et au laboratoire central d'Alger. Il est important de signaler qu'à ce niveau aucune vache n'a fait l'objet d'un abattage sanitaire (brucellose ou autres).

Cette différence de prévalence pourrait s'expliquer par le fait que notre échantillon était constitué uniquement de vaches. Ces dernières étant plus exposées au risque d'infection par la brucellose [128]. Aussi, nous avons travaillé dans un abattoir où les bovins abattus sont sans l'obligation d'un certificat d'abattage, et comme la majorité de notre échantillon est en provenance du marché à bestiaux de Bouira, les propriétaires transgressent souvent le règlement de l'abattage sanitaire même après le retrait de la boucle d'oreille.

Par ailleurs notre prévalence concorde avec celles relevées lors de l'enquête menée par KHAMES en 2012 [138] qui rapportent une prévalence de 10,44 % au niveau de l'abattoir de Rouïba (Alger).

Nous avons relevé 22 prélèvements séropositifs au Rose Bengale (E.A.T) (11%) dans l'abattoir de El Azizia, et 3 (12%) dans l'abattoir de Médéa. Le test statistique n'a donné aucune différence significative avec un ($p > 0.05$). Ces résultats démontrent que la brucellose bovine est largement répandue dans les abattoirs de la région d'étude.

✓ L'âge :

L'âge peut être un facteur de variabilité de prévalence ; plusieurs études menées en Afrique centrale ont montré que la prévalence individuelle de la brucellose est étroitement liée à l'âge des animaux. Elle est significativement plus élevée chez les animaux âgés par rapport aux jeunes (CHANTAL et THOMAS 1976 [138], Akakpo *et al.* 1984 [124] ; MUSA *et al.* 2001 [126] ; TURKSON *et al.*, 1992 [125]; BOUKARY *et al.*, 2013 [140]). Cette prévalence plus élevée chez les animaux âgés correspond à une plus grande probabilité d'exposition à l'infection et d'un développement de la maladie plus élevé avec l'âge. Contrairement à ce que nous avons trouvé les animaux les plus jeunes sont plus touchés par la

brucellose bovine, dont 16,16% des vaches étaient âgées de 2 à 5 ans et 6,09% (7) seulement dépassaient les 5 ans. Ajouté à cela, les valeurs révélées par le test Khi-2 qui ont montrées une différence significative ($p < 0.05\%$). Cela pourrait être expliqué par le fait que notre échantillonnage était majoritairement âgé de moins de 5 ans. Une enquête réalisée en Egypte par SAMAHA *et al.* en 2009 [140] vient appuyer nos résultats en confirmant que le risque infectieux était inversement proportionnel à l'âge.

✓ La gestation :

Les différentes études réalisées dans ce sens n'ont pas établi une relation claire entre l'état physiologique de l'animal et son statut sérologique (Magona *et al.*, 2009 [142] ; Kouamo *et al.*, 2010 [143]; Adamou, 2010 [144]). Parmi les 36 femelles gestantes, présentes durant notre étude, 4 seulement étaient positives, soit une prévalence de 11,11%. Le test Khi-2 n'a montré aucune différence significative ($p > 0.05\%$). Cette prévalence est inférieure à celles trouvées par AKKOU *et al.* en 2010 [137] soit 5,5% et plus faible que celle rapportée par KHAMES *et al.* en 2011 soit 19,4% [138].

✓ La race:

La race locale semble la plus touchée avec une prévalence de 28,7%, suivie par la race croisée (11,6%), cependant, la race d'importation n'a enregistré que 5,4%, l'analyse des résultats par le test de Chi2 corrigé de Yates a donné un résultat non significatif ($p = 0.1804$). En Algérie une étude réalisée par KHAMES *et al.* 2011 [138] rapportent un résultat différent où les races d'importation sont les plus touchées (12%), suivies des races croisées et locales avec des prévalences de 8.92% et 3.33% respectivement.

Certains auteurs mettent en relief une plus grande sensibilité des taurins par rapport aux zébus tandis que d'autres soutiennent le contraire (Thimm et Wundt 1976 [145] ; Chantal et Thomas, 1976 [139]). Une étude réalisée au niveau de 7 pays, a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les taurins et les zébus (Akakpo, 1987 [146]). Cependant, il ressort que les animaux métis issus de croisement entre les races locales de zébu et de taurins ont une plus grande

sensibilité à l'infection brucellique comparativement aux races pures (Akakpo, 1987[146]).

✓ Analyse histopathologique

L'observation microscopique des échantillons ganglionnaires correspondant aux animaux abattus et répondant positivement au test du rose Bengale (séropositifs) a dévoilé en majorité des lésions lymphoprolifératives exprimant une adénopathie réactionnelle aigue ou subaigüe. ceci s'est manifesté histologiquement par une infiltration lymphocytaire allant jusqu'à l'effacement de la zone cortico-paracorticale, ceci pourrait s'expliquer par l'envahissement de la zone corticale par les lymphocyte T hyperplasiques activés par les cellules dendritiques ou cellules présentatrices d'antigènes ainsi que des macrophages ayant phagocyté l'intrus à sa porte d'entrée au niveau des zones périphériques. Cette hyperplasie paracorticale est la conséquence d'un afflux de lymphocyte T de tout l'organisme ainsi que d'une sollicitation de leur multiplication locale. Ceci est aussi valable pour les lymphocytes B qui s'hyperplasient à leur tour, ce qui se manifeste par une hypertrophie de leur centre germinatif. La conséquence de cette sollicitation antigénique va se solder par la synthèse d'anticorps spécifiques dirigés contre l'agent brucellique principalement. Il s'agit des IgG qui pourront être détectés par la suite au niveau sanguin par le test de rose Bengale [147].

La sensibilité au test de rose Bengale est aussi bien accrue en phase aigue qu'en phase subaigüe mais aussi en phase chronique [148], où il nous a été possible d'observer un ganglion séropositif avec des lésions granulomateuses. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ce dernier reste positif très longtemps et même au de la phase subaigüe étant donné que le test au rose Bengale correspond à une réaction non pas quantitative mais qualitative dont la présence d'anticorps même en quantité minime marque sa positivité [149].

Il serait bien sure nécessaire lors d'études ultérieurs d'élargir notre diagnostic vers d'autres organes étant donnée que le ganglion n'est qu'une zone de relais.

7.4. Conclusion

Tout au long de notre durée d'étude au niveau des deux abattoirs d' El Azizia et de Médéa on a pu conclure qu'indépendamment de la gestation et de la race, les vaches entre 2 et 5 ans étaient les plus sensibles à la maladie.

L'analyse sérologique de 225 vaches n'a révélée que seule 25 étaient séropositives soit une prévalence de $11,11 \pm 0,22$ %. L'aspect souvent aigue des lésions est révélateur du caractère endémique de cette dernière, preuve inéluctable de la présence indéniable de foyers infectieux entretenues mais jamais éradiqués ; surtout dans des zones où l'inconscience domine la conscience. Ce constat d'échec des mesures prophylactiques et sanitaires supposées être appliquées et respectées minutieusement n'est que la preuve d'un manquement délibéré au respect des valeurs de l'intégrité professionnelle et morale.

CONCLUSION GENERALE

A Médéa, au cours de cette dernière décennie, la brucellose humaine constitue la deuxième zoonose après les leishmanioses avec une incidence de 883 cas/10⁵ habit .En effet, l'évolution du taux d'incidence de la brucellose, dans cette région, montre une diminution durant les dernières années, ceci serait due aux mesures draconiennes déployées par les autorités locales afin d'éradiquer cette zoonose. La distribution spatiale a montré que la région de l'Ouest est plus touchée que la région de l'Est. Ainsi les informations issues de cette actualisation épidémiologique relative à la brucellose humaine seront sans doute utiles dans l'évaluation de l'efficacité des mesures de lutte mises en place d'une part, et dans la prise de décision d'autre part.

L'enquête sérologique de la brucellose bovine par le test (E.A.T) a pu mettre en évidence une séroprévalence individuelle de 2.71% ± 1.81 et 13,80% au niveau des élevages présentant au moins un bovin positif, avec une distribution variable selon les communes prélevées. La région de l'Ouest est plus touchée par la brucellose bovine ce qui confirme le taux d'incidence élevée de la brucellose humaine dans cette région et cela malgré les efforts de l'état pour éradiquer cette grave zoonose.

L'étude des facteurs de risques a montré que les bovins âgés de plus de 5 ans, ainsi que les vaches qui ont eu des antécédents d'avortement sont les plus touchés par la brucellose avec des séroprévalences (10,09%) et (4,34%) respectivement. En revanche le type d'élevage et le sexe ne constituaient pas des facteurs de risque dans notre étude. L'investigation révèle aussi l'ignorance quasi-totale de cette maladie au sein du milieu des éleveurs, ce qui explique la persistance de cette dernière avec ses conséquences sur la santé de l'homme.

Enfin, l'étude au niveau de deux abattoirs au sein de la wilaya de Médéa a dévoilé une séroprévalence apparente très élevée de la brucellose chez les vaches abattues (11.11% ± 0.22) avec une prévalence réelle de (11.31% ± 0.22). Durant notre investigation l'âge constituait un facteur de risque, la gestation et le type des bovins n'ont révélé aucune différence. L'étude histopathologique des

ganglions rétropharyngiens et supramammaires chez les vaches séropositives au test de (E.A.T) a révélé des lésions évoquant une lymphadénite réactionnelle aigue se manifestant par une hyperplasie lymphoïde corticale et paracorticale signalant ainsi la présence spécifique d'un antigène au niveau sanguin et lymphatique cherchant à se faire identifier afin de déployer l'artillerie de l'immunité spécifique s'extériorisant à priori par une synthèse d'IgG.

Aussi il nous a été possibles d'observer un cas chronique, par la présence d'un granulome de bang typique de la brucellose ce qui signifie que cette pathologie sévit encore et toujours à l'état chronique.

La mise en œuvre de moyens de prévention et de diagnostic constitue un facteur limitant dans notre pays en générale et à Médéa en particulier, à cause du manque de sensibilisation des parties concernées et leur opacité omniprésente associée à une méconnaissance mêlée de ruse. Ce qui se manifeste par l'entretien sournois de la maladie et ses conséquences dramatiques sur la santé humaine et animale sans oublier les répercussions économiques et sociales qui en découlent.

RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Notre étude sur la brucellose bovine au niveau de la wilaya de Médéa, nous a permis d'acquérir certaines connaissances sur cette pathologie zoonotique majeure. La somme de ces connaissances nous a conduit à établir une liste de recommandations non exhaustives dont la prise en compte et l'application rigoureuses seront d'une utilité manifeste pour les décideurs, responsables de la santé publique, les professionnels des animaux, ainsi que pour les consommateurs d'une façon générale.

- La mise en place de moyens de dépistage de la brucellose dans tous les hôpitaux pour faciliter le diagnostic rapide.
- Des campagnes de sensibilisation appropriées doivent être mises en route insistant sur les voies les plus importantes de contamination (ingestion de lait et les produits laitiers crus, contact direct avec les animaux, surtout lors de problèmes obstétricaux).
- Des enquêtes rigoureuses de la part de l'Etat, pour connaître la vraie situation de la brucellose animale chez toutes les espèces (bovine, ovine et caprine), afin d'instaurer une stratégie de lutte adéquate;
- L'identification des animaux et le contrôle de leur mouvement sont nécessaires pour assurer un suivi régulier spatio-temporel ;
- Des moyens matériels plus adéquats doivent être fournis aux vétérinaires de terrain.
- Le niveau d'indemnisation des éleveurs doit être amélioré, il doit s'appliquer à tous les animaux (bovins, caprins et ovins), pour favoriser l'élimination rapide des animaux infectés.
- Création de structures de diagnostic au niveau de chaque wilaya ;

- Encourager les recherches scientifiques sur la maladie afin d'accélérer son éradication et ceci en subventionnant des projets de recherche.
- Utiliser les méthodes modernes pour isoler les souches responsables de la brucellose animale et humaine, comme la technique de biologie moléculaire.

APPENDICE A**LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

Ac	: Anticorps.
Ag	: Antigène
ADN	: Acide Désoxyribonucléique.
ARN	: Acide Ribonucléique.
ARNr	: Acide Ribonucléique.
B.	: Brucella
CD4, 8	: Cellules Dendritique type 4 et 8
CIE	: Contre-immunoelectrophorese.
Cm	: Centimetre.
CNRL	: Centre National de Reference des Leishmanioses.
DSV	: Direction des services veterinaires
EAT	: Epreuve a l'Antigene Tamponne
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbant assay.
F.A.O	: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
FC	: Fixation de complement
IFI	: Immunofluorescence Indirecte.
IFN- γ	: Interferon.
HN	: Haptene Natif
Ig	: Immunoglobuline.
IL	: Interleukine.
INSP	: Institut National de Sante Publique.
I. N. S.P.	: Institut National de Sante Publique.
IPA	: Institut Pasteur d'Algerie.
ITS1	: internal transcribed spacer 1
IV	: Intraveineuse.
RT	: Ring test.
LPS	: Lipopolysaccharide.
LPS-R	: Lipopolysaccharide rough.
LPS-S	: Lipopolysaccharidesmooth.

OIE : Office International des Epizooties.

OMS : Organisation Mondiale de la Sante.

pH : Potentiel Hydrogène

APPENDICE B
NOMBRE DE CAS DE ZONNOSES ET BRUCELLOSE HUMAINE DECLARES
DANS LA WILAYA DE MEDEA (DU 2004 AU 2014)

LES ZONNOSES

2004

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE
LA POPULATION
SERVICE DE LA PREVENTION

BILAN ZONNOSES

ANNEE : 2004

Secteur Sanitaire	Rage		Kyste Hydatique		Leishmaniose .C		Leishmaniose .V		Brucellose		TOTAL		TOTAL
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
Médéa	0	0	7	13	1	2	0	0	0	0	8	15	23
Berrouaghia	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	3	3	6
Ksar El Boukhari	1	0	8	23	23	16	0	0	30	31	62	70	132
Ain Boucif	0	0	1	3	0	1	0	0	6	5	7	9	16
Beni Slimane	0	0	4	3	0	1	1	0	0	0	5	4	9
Tablat	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	2	4	6
TOTAL	1	0	22	43	24	20	4	6	36	36	87	105	192
	1		65		44		10		72		192		

2005

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE
LA POPULATION
SERVICE DE LA PREVENTION

BILAN ZONNOSES

ANNEE 2005

Secteur Sanitaire	Rage		Kyste Hydatique		Leishmaniose .C		Leishmaniose .V		Brucellose		TOTAL		TOTAL
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
Médéa	0	0	6	12	8	9	0	2	3	1	17	24	41
Berrouaghia	0	0	1	6	2	1	0	0	2	1	5	8	13
Ksar El Boukhari	0	0	15	20	980	830	0	0	56	40	1051	890	1941
Ain Boucif	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Beni Slimane	0	0	7	4	1	1	1	0	0	0	9	5	14
Tablat	0	0	0	1	1	1	4	3	0	0	5	5	10
TOTAL	0	0	29	43	992	842	5	5	62	42	1088	932	2020
	0		72		1834		10		104		2020		

2006

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION
ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
SERVICE DE PREVENTION

LES ZONNOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2006

AFFECTIONS TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	01	00	01	01	02	15	26	04	12	01	04	21	46	67
LEISHMANIOSE.C	15	17	55	30	47	43	42	56	21	31	63	65	32	33	20	14	295	289	584
LEISHMANIOSE.V	00	02	01	00	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	02	02	04
BRUCELLOSE	01	00	02	04	04	05	25	10	21	15	70	43	20	19	07	06	150	102	252
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	01	00	01	01
TOTAL	16	19	58	34	52	49	67	67	43	48	148	134	56	64	28	25	468	440	908

2007

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION
ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
SERVICE DE PREVENTION

LES ZONNOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2007

AFFECTIONS TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	00	02	02	00	02	03	18	00	06	00	02	05	30	35
LEISHMANIOSE.C	04	07	11	05	11	06	12	12	10	06	20	20	11	10	08	03	87	69	156
LEISHMANIOSE.V	02	01	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	03	01	04
BRUCELLOSE	00	00	01	00	03	02	06	01	05	06	38	19	08	12	06	02	67	42	109
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
TOTAL	06	08	13	05	14	08	20	15	15	14	61	57	19	28	14	07	162	142	304

2008

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION
ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
SERVICE DE PREVENTION

LES ZONNOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2008

AFFECTIONS TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	00	01	00	00	03	05	01	04	03	01	02	11	09	20
LEISHMANIOSE.C	06	07	11	13	07	07	12	06	03	08	26	16	02	05	04	05	71	67	138
LEISHMANIOSE.V	00	01	01	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	01	02	03
BRUCELLOSE	01	00	00	00	02	00	01	00	06	02	18	15	10	08	05	03	43	28	71
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
TOTAL	22	08	38	14	25	07	34	06	31	13	130	32	48	16	30	10	358	106	232

2009

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION
ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
SERVICE DE PREVENTION

LES ZOONOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2009

TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	01	00	00	01	00	04	09	03	04	01	00	09	14	23
	00		00		01		00		01		13		07		01		23		
LEISHMANIOSE.C	02	05	08	04	06	05	03	07	10	05	18	14	06	07	02	01	55	48	103
	07		12		11		10		15		32		13		03		103		
LEISHMANIOSE.V	00	01	02	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	02	01	03
	01		02		00		00		00		00		00		00		03		
BRUCELLOSE	00	00	01	00	02	01	02	01	02	02	23	07	07	03	03	02	40	16	56
	00		01		03		03		04		30		10		05		56		
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	00		00		00		00		00		00		00		00		00		
TOTAL	10	06	26	04	23	07	18	08	33	07	120	30	46	14	15	03	291	79	185
	16		30		30		26		40		150		60		18		185		

2010

DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION

SERVICE DE PREVENTION

LES ZOONOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2010

TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	01	00	00	00	02	01	15	03	03	00	00	04	21	25
	00		00		01		00		02		16		06		00		25		
LEISHMANIOSE.C	01	07	08	09	05	02	05	08	07	10	18	13	06	05	01	02	51	56	107
	08		17		07		13		17		31		11		03		107		
LEISHMANIOSE.V	01	01	01	01	00	01	00	01	00	00	00	00	00	00	00	00	02	04	06
	02		02		01		01		00		00		00		00		06		
BRUCELLOSE	00	00	01	00	02	00	02	02	05	04	24	20	09	03	05	02	48	31	79
	00		01		02		04		09		44		12		07		79		
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	00		00		00		00		00		00		00		00		00		
TOTAL	12	08	30	10	18	04	25	11	40	16	134	48	47	11	16	04	322	112	217
	20		40		22		36		56		182		58		20		217		

2011

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION

SERVICE DE PREVENTION

LES ZOONOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2011

TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	TOTAL
K.HYDATIQUE	00	00	01	00	00	00	02	00	02	01	08	10	02	05	01	00	16	16	32
	00		01		00		02		03		18		07		01		32		
LEISHMANIOSE.C	05	03	21	28	15	14	16	06	19	01	36	36	19	26	01	02	132	116	248
	08		49		29		22		20		72		45		03		248		
LEISHMANIOSE.V	00	01	01	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	01	02	03
	01		02		00		00		00		00		00		00		03		
BRUCELLOSE	00	00	00	00	01	00	00	00	00	01	30	10	07	03	01	01	39	15	54
	00		00		01		00		01		40		10		02		54		
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	00		00		00		00		00		00		00		00		00		
TOTAL	14	04	75	29	46	14	42	06	45	03	204	56	90	34	09	03	525	149	337
	18		104		60		48		48		260		124		12		337		

2012

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION

SERVICE DE PREVENTION

LES ZOONOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2012

TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		%	/100000	INC
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F			
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	00	00	03	00	02	00	04	10	03	14	03	01	15	25	40	20%	04,62
LEISHMANIOSE.C	02	05	14	12	05	06	03	05	09	04	20	11	08	06	07	06	68	55	123	63%	14,20
LEISHMANIOSE.V	01	00	01	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	02	00	02	1%	00,23
BRUCELLOSE	00	00	00	00	00	01	00	01	04	01	10	05	03	04	01	01	18	13	31	16%	03,58
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	0%	00,00
TOTAL	11	05	42	12	17	07	18	06	35	05	94	26	52	24	30	08	299	93	196	100%	22,62

2013

WILAYA DE MEDEA
DIRECTION DE LA SANTE ET DE LA POPULATION

SERVICE DE PREVENTION

LES ZOONOSES
PAR TRANCHE D'AGE

ANNEE 2013

TRANCHE D'AGE	0-1 ANS		2-4 ANS		5-9 ANS		10-14 ANS		15-19 ANS		20-44 ANS		45-65 ANS		65 +		TOTAL		TOTAL
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
K.HYDATIQUE	00	00	00	00	01	00	00	02	01	01	11	13	00	11	03	04	16	31	47
LEISHMANIOSE.C	04	04	05	04	02	06	05	03	03	01	14	14	08	04	03	01	44	37	81
LEISHMANIOSE.V	00	00	00	01	00	00	00	00	00	00	01	00	00	00	00	00	01	01	02
BRUCELLOSE	00	00	00	00	00	00	01	00	01	02	05	05	03	02	03	02	13	11	24
RAGE	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
TOTAL	12	04	15	05	12	06	17	05	14	04	94	32	39	17	25	07	228	80	154

APPENDICE C
LA POPULATION HUMAINE DANS LA PERIODE D'ETUDE (2004-2014)

2004

secteur sanitaire	population
Médéa	217958
Berrouaghia	199313
Ksar el boukhari	151035
Ain Boucif	104357
Beni Slimane	120532
Tablat	103615
TOTAL	896810

2005

secteur sanitaire	population
Médéa	220776
Berrouaghia	201938
Ksar el boukhari	153026
Ain Boucif	105730
Beni Slimane	122119
Tablat	104974
TOTAL	908563

2006

secteur sanitaire	population
Médéa	223779
Berrouaghia	204680
Ksar el boukhari	155104
Ain Boucif	107165
Beni Slimane	113912
Tablat	106401
TOTAL	911041

2007

secteur sanitaire	population
Médéa	227135
Berrouaghia	207750
Ksar el boukhari	157431
Ain Boucif	108772
Beni Slimane	115621
Tablat	107997
TOTAL	924706

2008

secteur sanitaire	population
Médéa	216789
Berrouaghia	161124
Ksar el boukhari	155131
Ain Boucif	99947
Beni Slimane	94407
Tablat	87542
TOTAL	814940

2009

secteur sanitaire	population
Médéa	222316
Berrouaghia	159997
Ksar el boukhari	61743
Ain Boucif	106642
Beni Slimane	96048
Tablat	88675
TOTAL	735421

2010

secteur sanitaire	population
Médéa	226762
Berrouaghia	163195
Ksar el boukhari	162267
Ain Boucif	108774
Beni Slimane	97970
Tablat	90449
TOTAL	849417

2011

secteur sanitaire	population
Médéa	231296
Berrouaghia	166460
Ksar el boukhari	101274
Chahbonia	64238
Ain Boucif	110950
Beni Slimane	99930
Tablat	92258
TOTAL	866406

2012

secteur sanitaire	population
Médéa	235922
Berrouaghia	169789
Ksar el boukhari	103300
Chahbonia	65522
Ain Boucif	113170
Beni Slimane	101929
Tablat	94103
TOTAL	883735

2013

secteur sanitaire	population
Médéa	240641
Berrouaghia	173186
Ksar el boukhari	105366
Chahbonia	66833
Ain Boucif	115433
Beni Slimane	103968
Tablat	95985
TOTAL	901412

2014

secteur sanitaire	population
Médéa	245454
Berrouaghia	176650
Ksar el boukhari	107473
Chahbonia	68170
Ain Boucif	117742
Beni Slimane	106047
Tablat	97905
TOTAL	919440

APPENDICE D FICHE D'ELEVAGE

1- Date :.....

2- Wilaya :..... Commune :.....

3- Numéro (code) de l'élevage :.....

1 - Elevage :

Bovins

Caprins

Ovins

2- Type de l'élevage

Libre

Semi-entravé

Entravé

3- Mélangez-vous vos animaux avec d'autres animaux lors du pâturage ?

Oui

Non

4- Avez-vous des problèmes d'avortements chez les femelles ?

Oui

Non

5 - Si oui, sont-ils répétitifs ?

Oui

Non

6- Connaissez-vous la brucellose ?

Oui

Non

7- Savez-vous que la brucellose touche :

Bovins

Ovins

Caprins

8- Que faites-vous avec les animaux atteints par la brucellose ?

Isolement

Abattage

Vente

9- Gardez-vous les femelles nées des mères infectées par la brucellose ?

Oui

Non

10- Est-ce que vos animaux sont vaccinés contre la brucellose?

Oui

Non

Nous vous remercions pour votre aimable collaboration

APPENDICE F
FICHE DE PRELEVEMENT (ABATTOIR)

1- Date :.....

2- Wilaya :.....

3- abattoir :.....

4- Numéro de prélèvement :.....

5- Age :.....

6- Race :.....

7- Gestation

Oui

Non

APPENDICE E
FICHE DE PRELEVEMENT (TERRAIN)

1- Date :.....

2- Wilaya :..... Commune :.....

3- Numéro (code) de l'élevage :.....

4- Numéro de prélèvement :.....

5- Type d'animal prélevé

Bovin Caprin

6- Si bovin, identifié ?

Oui Non

7- Si oui, numéro d'identification :

.....

8- Age :.....

9- Race :.....

10- L'animal a-t-il été récemment introduit dans l'élevage ?

Oui Non

11- Gestation

Oui Non

12- L'animal a-t-il déjà avorté ?

Oui Non

LA LISTE DES REFERENCES

1. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ World Health Organization guidance. 2nd edition of World Health Organisation's 1970 publication Health aspects of biological and chemical weapons. Organisation Mondiale de la Santé : Genève, b, (2004). 340 p.
2. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ, Brucellosis in humans and animals. Organisation mondiale de la Santé : Genève, (2006), 86p.
3. Mangen M.-J., Otte J., Pfeiffer D., Chilonda P. Bovine brucellosis in Sub-Saharan Africa: estimation of sero-prevalence and impact on meat and milk offtake potential. Food and Agriculture Organization : Rome, (2002), 58 p.
4. Roth F., Zinsstag J., Orkhon, D., Chimed-Ochir G., Hutton G., Cosivi O., Carrin G., Otte J. Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. *Bull. World Health Organ.*, (2003), 81, 867-76.
5. Desachy F., Les zoonoses, transmission des maladies des animaux à l'homme ; identification des pathologies les plus courantes : diagnostic, traitement et soins des maladies. Edition de VECCHI S.A., (2005).
6. code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE : www.oie.int/fr/normeinternationales/code-terrestre/acces-en-ligne/
7. Janbon F. Brucellose. *Encycl Méd Chir, Maladies Infectieuses*, 8-038-A-10 ; (2000) : 11 p.
8. Vanderkerckhove C, Stahl J.P. Brucellose. Données épidémiologiques et thérapeutiques. *Rev Prat* (1993) ; 7 : 47-52.
9. Sarinas PSA, Chitkara RK. Brucellosis. *Sem Resp Infect* (2003);18: 168–82
10. M. Maurin. La brucellose à l'aube du 21^e siècle Brucellosis at the dawn of the 21st century . *Service de bactériologie–virologie, université Joseph-Fourier, CHU de Grenoble, BP 217, 38043 Grenoble cedex, France* .6 août (2004).
11. Ewalt DR, Payeur JB, Martin MB, Cummins DR, Miller WG. Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J Vet Diagn Investig* (1994);6:448–52

12. Bricker BJ, Ewalt DR, MacMillan AP, Foster G, Brew S. Molecular characterization of *Brucella* strains isolated from marine mammals. J Clin Microbiol (2000);38:1258–62.
13. Sohn AH, Probert WS, Glaser CA, Gupta N, Bollen AW, Wong JD, et al. Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. Emerg Infect Dis (2003);9:485–8.
14. Garin-Bastuji B. La brucellose ovine et caprine. Le Point Vétérinaire (2003);34(225):22-6.
15. Thakur SD, Kumar R, Thapliyal DC. Human brucellosis : review of an under-diagnosed animal transmitted disease. J. Commun. Dis (2002);34(4):287-301.
16. Acha PN, Szyfres B. Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Paris : Office international des épizooties ; (1989).
17. Benkirane, Surveillance épidémiologique et prophylaxie de la brucellose des ruminants : l'exemple de la région Afrique du Nord et Proche-Orient. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., (2001), 20 (3), 757-767.
18. Moreno E, Stackebrant E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H. *Brucella abortus* 16SrRNA and lipidA reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class *Proteobacteria*. J Bacteriol (1990);172:3569–76.
19. Yanagi M, Yamasato K. Phylogenetic analysis of the family *Rhizobiaceae* and related bacteria by sequencing of 16S rRNA gene using PCR and DNA sequencer. FEMS Microbiol Lett (1993);107:115–20.
20. Jahans KL, Foster G, Broughton ES. The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals Vet. Microbiol (1997);57:373– 82.
21. Cloeckaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin-Bastuji B, Foster G, et al. Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals: polymorphism at the *omp2* locus. Microbes Infect (2001);3:729–38.
22. Cloeckaert A, Grayon M, Grepinet O, Boumedine KS. Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals: infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. Microbes Infect (2003) ;5:593–602.

23. Garin-Bastuji B, Delcueilierie F. Les brucelloses humaine et animale en France en l'an 2000. Situation épidémiologique – Programmes de contrôle et d'éradication. *MedMal Infect* (2001); 31 suppl 2 : 202-216.
24. Godfroid J. Brucellosis in wildlife. *Rev Sci Tech Off Epiz* (2002);21: 277–86.
25. Shapiro DS, Wong JD. *Brucella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: American Society for Microbiology; (1999).
26. Dubray G. Etude ultra structurale des bactéries des colonies lisses (S) et rugueuses (R) du genre *Brucella*. *Ann Inst.pasteur*, (1972), 123, 171-193.
27. Nicoletti P. – Brucellosis, in: *Current Veterinary Therapy 4 : Food animal practice*, Howrd J.L et Smith R.A, R.A W.B Saunders company, (1999). Philadelphia, USA, 364-368.
28. Pilet C, Bourdon J.L, Toma B., Marchal N., Balbastre C. – Genre *Brucella*, in: *Bactériologie médicale et vétérinaire – Systématique bactérienne, 2^{ème} édition, 3^{ème} tirage*, DOin Editeurs, Paris, (1983), 203-212.
29. Flandrois J.P. *Brucella* in : *Bactériologie médicale*, Flandrois Eds, Presses Universitaires de Lyon, Collection Azay, (1997),219-224.
30. Garin-Bastuji B., Dufour B. - Acquis de la recherche sur les réactions sérologiques non spécifiques en brucellose. Colloque national du 11 janvier (1995) organisé par la DGAL, le CNEVA et la FNGDSB, CNEVA Eds, 89pp.
31. DelVecchioVG, KapatralV, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, et al. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. *Proc Natl Acad Sci USA* (2002);99:443–8.
32. Michaux S, Paillisson J, Carles-Nurit MJ, Bourg G, Allardet-Servent A, Ramuz M. Presence of two independant chromosomes in the *Brucella melitensis* genome. *J Bacteriol* (1993);175:701–5.
33. Center for disease control and prevention (CDC), USA, <http://www.cdc.gov>.

34. Jumas-Bilak E, Michaux-Charachon S, Bourg G, O'Callaghan D, Ramuz M. Differences in chromosome number and genome rearrangements in the genus *Brucella*. *Mol Microbiol* (1998);27:99–106.
35. Paulsen I, Seshadri R, Nelson KE, Eisen JA, Heidelberg JF, Read TD, et al. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities, between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc Natl AcadSci USA* (2002);99:13148–53.
36. Corner L.A., Alton G.G., Iyer H. - An evaluation of a biphasic medium for the isolation of *Brucella abortus* from bovine tissues. *Austr. Vet J.*, (1985), 62,187-188.
37. Roux J. *Brucella*, in : *Bacteriologic medicate*, 2' edition, Le Minor L & Veron M ; Eds., Medecine-Sciences, Flammarion, Paris, (1989), 651-668.
38. Philippon A. Cours de bactériologie générale. Faculté de médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université paris V. (2003). <http://www.microbes-edu.org/etudiant/anatomie.html>.
39. Halling, S.M., Peterson-Burch, B.D., Bricker, B.J., Zuerner, R.L., Qing, Z., Li, L.L., Kapur, V., Alt, D.P., Olsen, S.C.: Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *J. Bacteriol.* (2005) 187, 2715-2726.
40. Michaux-Charachon S, Foulongne V, O'Callagnan D, Ramuz M. *Brucella* à l'aube du troisième millénaire : organisation du génome et pouvoir pathogène. *Pathol Biol* (2002);50:401–12.
41. Carter, G. R., & Wise, D. J.: *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*, 6th Ed, Ed Blackwell publishing company, (2004) p: 107.
42. Crespo Léon, F., Rodriguez Ferri, E. F., Martinez Valdivia, E., "Brucellose ovine etcaprine", In "Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chaudes", Tome 2, maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires (éd. Lefèvre, P.C., Blancou, J. & Chermettre, R.), Edition Lavoisier, Paris,London, New York, (2003), 891-904.
43. Lefèvre, P.C., Blancou, J. & Chermettre, R.: *Principales maladies infectieuses et parasitaire du bétail, Europe et régions chaudes*, Tome

- 2, Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaire, Edition Lavoisier, Paris, London, New York, (2003) 867-868.
44. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Clin Microbiol Rev* (2003);16:65–78.
45. Cloackaert A, Tibor A, Zygmunt MS. Brucella outer membrane lipoproteins share antigenic determinants with bacteria of the family Rhizobiaceae. *Clin Diagn Lab Immunol* (1999);6:627–9.
46. Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose, "sixième rapport", OMS, Genève, (1986),
47. Walker, R. L.: Brucella, In « Veterinary Microbiology », édition Blackwell Science, USA, (2002) pp : 105-112.
48. Gourreau et Bendali, F.: Manuel pratique de Maladies des Bovins, 4eme édition, France agricole, (2008) pp 80-82 .
49. Garin-Bastuji, B., "Brucelloses bovine, ovine et caprine : contrôle et prévention", *Le Point Vétérinaire*, vol. 25, n° 152, (1993), 107-114.
50. Anonyms : Animaux de rente : risque sanitaire pour l'homme. *La Dépêche Vétérinaire*, (1988), supplément technique n°3, 3
51. Ganniere J.P. La brucellose animale. Document des Ecoles Nationales Vétérinaires de France, Chaires de maladies contagieuses, 89pp.
52. Radostits O.M., GAY C.C., BLOOD D.C., HINCHCLIFF K.W. – Brucellosis caused by *Brucella abortus* (Bang's disease), in : *Veterinary medicine - A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9th Ed., W.B. Saunders Company, London, (2000), 867-881.
53. Crawford Richard, P., Huber Jan, D., Adams, Bruce.: Epidemiology and Surveillance. 131 - 151. In: Nielson Klaus, Duncan J Robert *Animal Brucellosis*. CRC Press., Boca Raton, Florida. (1990).
54. Samartino, L.E., Enright, F.M.: Interaction of bovine chorioallantoic membrane explants with three strains of *Brucella abortus*, *Am. J. Vet. Res.* 53:359-363 [PubMed]. (1992).

55. Quin, P.J., Markey, B.K. (2003): Concise Review of Veterinary Microbiology, Blackwell Science Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK, pp 52-55.
56. COMITE MIXTE FAO/OMS D'EXPERTS DE LA BRUCELLOSE. Sixième rapport, OMS Eds., Genève, 1986, 740, 145pp.
57. Tizard I. -- Serologic assays. *JA. V.M.A.*, (1982), 181, 1162-1165.
58. Fensterbank R. - Le diagnostic allergique de la brucellose. *Bull. Acad. Vét. de Fr.*, (1982), 55, 47-52.
59. Oliveira, S.C. & Splitter, G.A. CD8+ type 1 CD44hi CD45 RBlo T lymphocytes control intracellular *Brucella abortus* infection as demonstrated in major histocompatibility complex class I- and class II-deficient mice. *Eur. J. Immunol.*, (1995), 25 : 2551-2557.
60. Fernandes, D.M., JIANG, X., JUNG, J.H. & BALDWIN, C.L.: Comparison of T cell cytokines in resistant and susceptible mice infected with virulent *Brucella abortus* strain 2308. *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.*, (1996) 16 : 193-203
61. Skendros P., Pappas G. & Boura P. Cell-mediated immunity in human brucellosis. *Microbes Infect.*, (2011) 13, 134–142.
62. Hamdy, M.E., Amin, A.S. Detection of *Brucella* species in the milk of infected cattle, sheep, goats and camels by PCR, (2002).
63. Clotilde Marie Aude SIBILLE, Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie) ; these pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse (2006).
64. M.N. Xavier, T. A. Paixao, F. P. Poester, A. P. Lage and R. L. Santos. Pathological, Immunohistochemical and bacteriological Study of tissues and Milk of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus* ; *J. Comp. Path.*, Vol. Pages 140, 149-157. (2009).
65. Garin-Bastuji, B.: Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés. Le cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. *Point vétérinaire*, (1997).
66. Ozkurt, Z., Erol, S., Tasyaran, MA., Kaya, A.: Detection of *Brucella melitensis* by the BacT/Alert automated system and *Brucella* broth culture. *Clin Microbiol Infect*; (2002), 8(11): 749 - 752. [PubMed: 12445015].

67. Pappas, G., Panagopoulou, P., Christou, L., Akritidis, N. *Brucella* as a biological weapon. *Cell Mol Life Sci* ; (2006), 63(19-20): 2229 - 2236. [PubMed: 16964579].
68. Newby D.T., Hadfield T.L., Roberto F.F., 2003. Détection par PCR en temps réel de *Brucella abortus*: une étude comparative de SYBR green I, 5' exonucléase, et des dosages sonde d'hybridation. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 4753–4759.
69. Queipo-Ortuño, M. I., Colmenero, J. D., Muñoz, N., Baeza, G., Clavijo, E. & Morata, P. Rapid diagnosis of *Brucella* epididymo-orchitis by realtime polymerase chain reaction assay in urine samples. *J. Urol.* (2006), 176:2290-2293.
70. Queipo-Ortuño, M. I., Colmenero, J. D., Reguera, J. M., García-Ordoñez, M. A., Pachón, M. E., Gonzalez, M. and Morata, P. Rapid diagnosis of human brucellosis by SYBR Green I-based real-time PCR assay and melting curve analysis in serum samples. *Clin. Microbiol. Infect.* (2005), 11:713-718.
71. Baily G.G., Krahn J.B., Drasar B.S., et al., Détection de *Brucella abortus* et *Brucella melitensis* par amplification de l'ADN. *J. Trop. Med. Hyg.* (1992). 95, 271–275.
72. Bogdanovich T., Skurnik M., Lübeck P.S., et al., Validé 5 ' nucléase PCR pour l'identification rapide du genre *Brucella*. *J. Clin. Microbiol.* (2004). 42, 2261 2263.
73. Garin-Bastuji, B. Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés. Le cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. *Point vétérinaire*, (1993), 25, 23-32
74. Fensterbank, R. Rapport de synthèse : Brucellose des bovins et des petits ruminants : diagnostic, prophylaxie et vaccination, in : *Brucellose des bovins, ovins et caprins, série technique n°6*, OIE éditions. (1987), 286pp.
75. Office international des épizooties Chapitre 2.3.1.: Bovine Brucellosis. In : *Manuel of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* (2004) ; 13ème édition.
76. LEVIEUX D. Immunoglobulines bovines et brucellose. II. Activite des IgG1, IgG2 et IgM du serum dans les réactions d'agglutination, de

- Coombs, de fixation du complément et dans le test au Rose Bengale. *Ann. Rech. vét.*, 5, 343-353. (1974).
77. Alton G.G. The use and interpretation of the complement fixation test in the diagnosis of animal brucellosis. (1980) ; Doc. WHO/BRUC/80.355.
78. Nicoletti P. Further evaluations of serological test procedures used to diagnose brucellosis. *Am. J. vet. Res.*, (1969) ; 30, 1811-1816.
79. Hrrbert, W.J. Veterinary immunology, Revised reprint, Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, (1970) ; 367 p.
80. Mccaughey W.J. *Brucella* milk ring test on churn samples: a three-year study. (1972) ; *Vet. Rec.*, 90, 6-10.
81. Roepke M.H. Stiles F.C.; Potential efficiency of milk ring test for detection of brucellosis. *Am. J. vet. Res.*, (1970) ; 31, 2145-2149.
82. Lucero, NE., Escobar, GI., Ayala, SM., Silva, Paulo P., Nielsen, K.: Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. *J Med Microbiol*; (2003) ; 52(Pt 10): 883 - 887. [PubMed: 12972582].
83. European Commission ; The modification of Technical Annexes of Council Directive 64/432/EEC to take account of Scientific Developments regarding Tuberculosis, Brucellosis and Enzootic Bovine Leucosis. Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare adopted 11 October 1999. Sanco/B3/R10/1999.
84. Pouillot R., Garin-Bastuji B., Gerbier G., Coche Y., Cau C., Dufour B. & Moutou F. The brucellin skin test as a tool to differentiate false positive serological reactions in bovine brucellosis. *Vet. Res.*, (1997) ; 28, 365–374.
85. Bastuji B., Gerbier G., Coche Y., Cau C., Dufour B. & Moutou F. The brucellin skin test as a tool to differentiate false positive serological reactions in bovine brucellosis. *Vet. Res.*, (1997) ; 28, 365–374.
86. Saergerman C., VO T.-K.O., DE Waele L., Gilson D., Bastin A., Dubray G., Flanagan P., Limet J.N., Letesson J.J. & Godfroid J. Diagnosis of bovine brucellosis by skin test: conditions for the test and evaluation of its performance. *Vet. Rec.*, (1999) ; 145, 214–218.
87. Gainière, J.-P. La brucellose animale. Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Mérial (Lyon). (2005) ; 45 pages.

88. Oie, 2008. Manuel terrestre de l'OIE Section 2. 3 Maladies bovines de la liste B, chapitre 2. 3. 1 .brucellose bovine, Site internet :http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf97
89. Roux. J. Epidémiologie et prévention de la brucellose Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, 57 (2): 179-194 (2000).
90. OEI. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home (2010). Consulté le 24/04/2015
91. Nicoletti, P. The epidemiology of bovine brucellosis. Adv Vet Sci Comp Med; (1980), 24: 69 - 98. [PubMed: 6779513].
92. Fontaine, M. Vade-Mecum du vétérinaire. XV^e édition. O.P.U. Alger ; (1988) 1073-1120.
93. Gainière, J.P., "La Brucellose Animale", polycopié des écoles nationales vétérinaires françaises, (2002), 71 p. 4.
94. Ganiere, J.P., "La Brucellose Animale", polycopié des écoles nationales vétérinaires françaises, (2004), 45 p.
95. Acha, N. & Szyfres, B., "Zoonoses et maladies transmissibles commune à l'homme et aux animaux", Volume I: bactérioses et mycoses, 3^{ème} édition, O.I.E., Paris. (2005), 26-52.
96. Schurig, GC., Sriranganathan, N., Corbel, MJ. Brucellosis vaccines: past, present and future. Vet Microbiol ; (2002) ; 90(1-4): 479 - 496. [PubMed: 12414166].
97. Godfroid, J., Cloeckart, A., Liautard, J-P., Kohler, S., Fretion, D., Walravensk, K., Garin-Bastuji, B., Letesson, J-J. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. Veterinary Research N°36, (2005), P. 313-326.
98. Moriyon, I., Grillo, MJ., Monreal, D., Gonzalez, D., Marin, C., Lopez-Goni, I., Mainar- Jaime, RC., Moreno, E., Blasco, JM. Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status. Vet Res ; (2004), 35(1): 1 - 38. [PubMed: 15099501].
99. Institut de veille Sanitaire. « La brucellose humaine de 1998 à 2000 ». Surveillance nationale des maladies infectieuses 2000 : 199-201.

100. Anonyme 1 : Hellenic Center For Disease Control and Prevention (HCDCP).Ministry of Health Greece.Brucellosis in the world today. [consulte le 24 juin 2015].Consultable a l'URL:<http://www2.keelpno.gr/blog/?p=2033&lang=en>
101. INSP – Institut National de la Santé Populaire. (2009).
102. Tabet. Derraz. S.Bestaoui .CHU Hassani AEK, Service des maladies Infectieuses Sidi Bel Abbés. Epidémiologie et clinique de la brucellose humaine sur trois décennies en zone endémique. Algérie 13^{ème} journée national d'infectiologie (2012).
103. Dao. S., M. Traore, A. Sangho, K. Dantoume, A.A. Oumar, M. Maiga ,F. Bougoudogo. séroprévalence de la brucellose humaine à mopti, mali. Revue Tunisienne d'Infectiologie Oct. (2009); Vol.2 : 24 – 26.
104. Mutanda LN. Selected laboratory tests in febrile patients in Kampala, Uganda, East Afr Med J (1998) ; 75: 68-72.
105. Kunda J, Fitzpatrick J, Kazwala R et al. Health-Seeking Behavior of Human brucellosis cases in Rural Tanzania, BMC Public Health (2007) P 7 : 315.
106. Afifi S, Earhart K, Azab MA et al. Hospital- Based surveillance for acute febrile illness in Egypt: a focus on community-acquired bloodstream infections. Am J. Trop. Med. Hyg (2005) ; 73: 392-9.
107. Animut A, Mekonnen Y, Shimelis D, EphraimE. Febrile Illnesses of Different Etiology among Outpatients in Four Health Centers In Northwestern Ethiopia. J. Infect. Dis (2009) ; 62: 107-10.
108. F. Brucellose. Encycl Méd Chir, Maladies Infectieuses, 8-038-A-10 ; (2000) ;11 p.
109. Chakroun .M., N. Bouzouaia, la brucellose : une zoonose toujours d'actualité brucellosis : a topical zoonosis. Rev Tun Infectiol, Avril (2007), Vol 1, N°2, 1 – 10.
110. B.H. Boualem, S.A. Belkadi, A. Benabdella. Service des maladies infectieuses du CHU Oran, Algérie La prise en charge de la brucellose rurale. Médecine des maladies infectieuses 39 (2009), S68 P1.

111. Anonyme 1 : Wikipedia.
https://fr.wikipedia.org/wiki/Médéa#/media/File:DZ_26_Medea.svg. Consulté le 23/03 /2015.
112. Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H. Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc,Charlottetown, (2003), PP. 35-42
113. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénét J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. «Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures». (2001).
114. Jean, B.: Méthodes statistiques : Médecine et Biologie, éd : ESTEM, édition INSERM. (1996) ; pp 348.
115. Mac Millan A.P. Investigation of the performance of the Rose Bengale plate test in the diagnostic of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats
In:www.fao.org/ag/againfo/resources/documents/WAR/war/W6437T/w6437t09.htm
116. Shey-Njla O., Daouda, Nya E. *Et al* Enquête sérologique de la brucellose bovine au Cameroun ; Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. Tome LVIII. n°3. (2005).
117. Thys E., Yahaya M.A., Walravens K. *Et al* 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. n°4. (2005)
118. Lounès, N.: Séroprévalence de la brucellose animale dans la région centre et impact sur la santé publique, mémoire pour l'obtention de diplôme de magistère en sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida. (2007)
119. Bouzid .R. et al. Seasonal Prevalence of Primary Disease Dairy Herds in North-Eastern of Algeria. Journal of Animal and Veterinary Advances 9 (2): 210-215, 2010 ISSN: 1680-5593 Medwell Journals, (2010).
120. Aggad H ; Boukraa L. Prevalence of bovine and human brucellosis in western Algeria: comparison of screening tests. East Mediterr Health J. (2006) Jan-Mar;12(1-2):119-28.

121. Refai, M.; Incidence and control of brucellosis in the near east region. *Vet. Microbiol. Special Issue of Brucellosis*, (2002); 90: 1-4.
122. El-Sanousi, S.M. and E.E. Omer, Serological survey of brucellosis in Benghazi Cow project (Libya). *Int. J. Zoonoses*, (1985) 12: 207-210.
123. Agasthya AS, Isloor S, Probhudas K. Brucellosis in high risk group individuals. *Indian Journal of Medical Microbiology*, (2007) 25(1): 28-31.
124. Akakpo A.J., Bornarel P., D'almeida J.F. Epidémiologie de la brucellose bovine en Afrique tropicale 1: Enquête sérologique en République populaire de Bénin. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, (1984), **37**, 133-137.
125. Turkson P., Boadu D. Epidemiologie of bovine brucellosis in the Coastal Savanna zone of Ghana. *Acta Tropica*, (1992), 52, 39-43.
126. Musa M.T., Shigidi M.T.A. Brucellosis in Camels in Intensive Animal Breeding Areas of Sudan. Implications in Abortion and Early-Life Infections. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, (2001), 54, 11- 15.
127. Traore A., Hamidou H. T., Bale B., David W. R., Nongasida Y., Moumouni S. Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intraurbain à Hamdallaye (Ouagadougou). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, (2004), **8**, 3–8.
128. Faye B., Castel V., Lesnoff M., Rutabinda D., Dhalwa J. Tuberculosis and brucellosis prevalence survey on dairy cattle in Mbarara milk basin (Uganda). *Prev. vet. Med.*, (2005), 67, 267-281.
129. Chimana H.M., Muma J.B., Samui K.L., Hangombe B.M., Munyeme M., Matope G., Phiri A.M., Godfroid J., Skjerve E., Tryland M. A comparative study of seroprevalence of brucellosis in commercial and small-scale mixed dairy-beef cattle enterprises of Lusaka province and Chibombo district, Zambia. *Trop. Anim. Health Prod.*, (2010), doi : 10.1007/s11250-010-9604-4.
130. Dechicha, A., "Séroprévalence des agents abortifs dans les élevages bovins laitiers de la wilaya de Blida.", mémoire pour

- l'obtention du diplôme de magister en sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb- Blida, (2003).
131. Isloor, S.; Renukaradhya, G. J. & Rajasekhar, M. A., "serological survey of bovine brucellosis in India", *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 17 (3), (1998), 781-785.
 132. López-Merino A. Brucellosis in Latin America. In: Young EJ, Corbel MJ, Eds. *Brucellosis clinical and laboratory aspects*. Boca Raton: CRC Press (1989); pp. 151-61.
 133. Jimenez de Bagues MP, Marin C, Blasco JM. Effect of antibiotic therapy and strain 19 vaccination on the spread of *Brucella melitensis* within an infected dairy herd. *Prev Vet Med* (1991); 11: 17-24.
 134. Verger JM. *B. melitensis* infection in cattle. *Brucella melitensi*. In: Plommet & Vergers, Eds. Martinus Nijhoff Publ.: Dordrecht-Boston-Lancaster (1985).
 135. I.N.M.V, bulletin annuelle de la brucellose bovine dans la région de centre (2014).
 136. Google Earth : www.googleearth.com. Consulté le 02/04/2014.
 137. Akkou, M. Séroprévalence de la brucellose chez les vaches de réforme et impact sur la santé des professionnels au sein de l'abattoir d'El-Harrach, Ecole Supérieure Vétérinaire El-harrach. (2011).
 138. Khames, M. Séroprévalence de la brucellose bovine chez et impact sur la santé des professionnels au sein de l'abattoir de Rouiba, Ecole Supérieure Vétérinaire El-harrach. (2012).
 139. Chantal J., Thomas J. F. Etude sérologique sur la brucellose bovine aux abattoirs de Dakar. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **29**, 101-108. (1976).
 140. Boukary AR, Saegerman C, Abithh E., Fretin D., Alambédji Bada R., De Deken R., Harouna A.H., Yenikoye A., Thys E. Seroprevalence and potential risk factors for *Brucella abortus* biovar 3 infection in traditional cattle, sheep and goats reared in urban, periurban and rural areas of Niger. Submitted.
 141. Samaha, Hassan., Tarek, R. Mohamed, Ramadan M. Khoudair, Hossam M ;Ashour : Serodiagnosis of brucellosis in cattle and humans in Egypt, *immunobiology* 214, 223-226. (2009).

142. Magona J.W., Walubengo J., Galiwango T., Etoori A.
Seroprevalence and potential risk of bovine brucellosis in zoograzing and pastoral dairy systems in Uganda. *Trop. Anim. Health Prod.*, **41**, 1765-1771, (2009).
143. Kouamo J., Habimana S., Alamedji Bada R., Sawadogo G.J., Ouedraogo G.A. Séroprévalences de la brucellose, de la BVD et de l'IBR et impact sur la reproduction des femelles zébus Gobra et croisements inséminées en milieu traditionnel dans la région de Thiès au Sénégal *Revue Méd. Vét.*, , 161, 7, 314-321 (2010).
144. Adamou H. H. Etude épidémiologique de la brucellose dans les élevages laitiers urbains et périurbains de Niamey, Niger (Thèse de doctorat en Médecine vétérinaire). Ecole Inter-états des Sciences et de Médecine Vétérinaire, Dakar, 164 p. (2008)
145. Thimm B., Wundt W. The epidemiological situation on brucellosis in Africa. In : Dev. Biol. Standard (Ed.), Communication au Symposium de Rabat sur la brucellose, 2-3-4 juin 1975, 31. (1976).
146. Akakpo A.J., Saley M., Bornarel P., Sarradin P. Epidémiologie de la brucellose bovine en Afrique tropicale II: Analyse sérologique et identification des deux premières souches de *Brucella abortus* biotype 3 au Niger. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1986, **39**, 175-179.
147. Abul K. Abbas Andrew H. Lichtman ;. Précis d'immunologie
148. Skendros P. Boura ; Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., , 32 (1), 137-147P. Immunity to brucellosis (2013)
149. ISP WIV. Brucellose – Version Juillet 2014
<http://www.lab-cerba.com/pdf/0127F.pdf>. Consulté le 04/04/2015.