



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

INTITULE :
SÉROPRÉVALENCE DE LA BRUCELLOSE ANIMALE DANS LA RÉGION DE
LAGHOUAT, DJELFA, GHARDAYA , EL-BAIADH, OUARGLA .

Présenté par
MOUATTAH Med abdelaziz et LAATAR Attallah farouk

Devant le jury :

Président(e) : SALHI Omar MAA

Examineur : BELABDI Ibrahim MAA

Promoteur : BESBACI Mohammed MAA

Année 2015/2016

REMERCIEMENT

Tout d'abord,

Mes sincères remerciements pour *monsieur besbaci mohammed* mon promoteur qui nous a guidé et conseillé tout au long de la réalisation de ce travail avec sa patience et sa disponibilité.

Nos remerciements s'adressent également à la président de jury ainsi qu'aux honorables membres qui le composent

Nous n'oublierons pas de citer le personnel de laboratoire régionale de Laghouat pour ses précieux conseils et son aide a la réalisation de ce travail sincères remerciements.

Nos remerciements vont également a :

Les enseignants de département vétérinaire.

Et tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de prés.

A toute la promotion de l'année 2015/2016

DEDICACE

*je dédie ce modeste témoignage
de gratitude, reconnaissance et
ma tendre affection.*

À nos parents

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Espèces de Brucella, hôtes et répartitions géographique	14
Tableau 2 : Résistance et sensibilité de la Brucella	16
Tableau 3: principale méthodes utilise pour le diagnostique expérimentale directe de la brucellose .	25
Tableau 4 : principale méthodes utilise pour le diagnostique expérimentale indirecte de la brucellose	26
Tableau 5 : Stratégie de lutte et de contrôle de la brucellose en fonction de la situation épidémiologique .	29
Tableau 6 : Nombre d'élevages prélevés par espèces et nombre de prélèvements reçus dans le laboratoire.	36
Tableau 7: séroprévalence individuelle de la brucellose bovine dans la région.	36
Tableau 8 : séroprévalence du cheptel bovin brucellique.	37
Tableau 9 : séroprévalence individuelle de la brucellose caprine dans région.	38
Tableau 10: séroprévalence du cheptel caprin brucellique.	39
Tableau 11 : séroprévalence individuelle de la brucellose cameline.	40
Tableau 12 : séroprévalence du cheptel camelins brucellique dans la région.	41
Tableau 13 : séroprévalence individuelle de la brucellose ovine.	41
Tableau 14 : séroprévalence du cheptel ovin brucellique .	42
Tableaux 15 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon la région.	43
Tableaux 16 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon l'espèce.	43
Tableau 17 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon le type d'élevage.	44
Tableau 18 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon la saison.	44

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Évolution de la brucellose chez un individu	19
Figure 2 : Les étapes de l'E.A.T.	32
Figure 3: Résultat négatif	33
Figure 4: Résultat positif	33
Figure 5 : séroprévalence individuelle de la brucellose bovine .	37
Figure 6 : séroprévalence individuelle de la brucellose caprine	39
Figure 7 : séroprévalence individuelle de la brucellose cameline dans région	40
Figure 8 : séroprévalence individuelle de la brucellose ovine dans région.	42

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

Chapitre 01: Définition et étiopathogénie de la brucellose	12
1.1. Définition	12
1.1.1. Origine de la maladie en Algérie	13
1.1.2.Importance	13
1.1.3. Classification de l'agent causal	13
1.1.4. Identification de la bactérie	14
1.1.4.1 Caractères morphologiques de la Brucella :	14
1.1.4.2 Caractères culturaux de la Brucella	15
1.1.4.3 Caractères différentiels des espèces	15
1.1.4.4. Résistance et sensibilité de la Brucella	15
1.2.Pathogénie	16
1.2.1Conditions de l'infection	16
1.2.2.Étapes de l'infection	18
1.2.3.Réponse Immunitaire	19
Chapitre 02 : Étude épidémiologique de la brucellose	21
2.1.Épidémiologie descriptive	21
2.1.1.La brucellose dans le monde	21
2.1.2.La brucellose en Algérie	21
2.1.3.La brucellose animale	21

2.2.Épidémiologie analytique	22
2.2.1.Sources de contagion	22
2.2.2.Mode de transmission:	23
Chapitre 03 : diagnostic et prophylaxie de la brucellose.	25
3.1.DIAGNOSTIC	25
3.1.1.Diagnostic clinique	25
3.1.2.Diagnostic différentiel	25
3.1.3.Diagnostic expérimental	25
3.1.3.1.Diagnostic direct	25
a - Diagnostic Bactériologique	25
b - Diagnostic Génomique ou Moléculaire (PCR=Polymérase Chain Réactions	25
3.1.3.2.Diagnostic indirect	26
3.1.3.2.1.Mesure de la réponse humorale	26
A. Dans le sang	26
a - Épreuve à l'antigène tamponné ou test du rose Bengale (E.A.T. ou R.B.)	26
b - Séroagglutination en tube de Wright (SAW, SAL, SAT ou TAT)	26
c - Réaction de fixation du complément (F.C.)	26
d -Test immuno-enzymatique ou enzyme-linked immunosorbant assay (E.L.I.S.A ou EIA)	26
B. Dans le lait	27
a- Le Ring Test ou test de l'anneau (R.T.)	27
b- E.L.I.S.A	27
3.1.3.2.2.Mesure de la réponse cellulaire	27
a - Épreuve cutanée allergique à la brucelline (ECA ou IDR)	27
b - EIA-Interféron γ	27
3. 2.Traitement	28
3.3.Prophylaxie	28
CONCLUSION	30

PARTIE EXPERIMENTALE	31
1. Introduction et objectif	31
2. Matériel et méthodes	31
2.1. Les prélèvements	31
2.2. Méthodes	31
2.2.1. Test de dépistage: (test qualitatif) est le test de rose Bengale ou test de l'EAT	31
2.2.2. Test de confirmation ou de contrôle: (quantitatif) est l'épreuve de la fixation du complément	31
3. Résultats	36
3.1. Résultats de l'étude sérologique de la brucellose dans la région d'étude	36
- Séroprévalence de la brucellose animale	36
- Séroprévalence de la brucellose bovine	36
- Séroprévalence de la brucellose caprine	38
- Séroprévalence de la brucellose cameline	39
- Séroprévalence de la brucellose ovine	41
3.2. Variation de la séropositivité de la brucellose selon quelques facteurs de risque	43
- La région ou zone d'étude	43
- L'espèce	43
- Le type d'élevage	44
- La saison	44
4. Discussion	45
- Séroprévalence de la brucellose animale dans la région d'étude	45
-Références	48
-APPENDICES	52

RÉSUMÉ

La brucellose sévit en Algérie depuis le début du 19^{ème} siècle; jusqu'à aujourd'hui, elle continue à se propager dans nos élevages provoquant de lourdes pertes économiques et enregistrant de nombreux cas humains.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à une région du pays qui regroupant Cinq wilayas.

Notre étude comporte deux parties :

La première partie est basé sur étudié l'évolution de la brucellose dans la région de **Laghouat , Djelfa, Ghardaïa, El-Bayadh, Ouargla** chez les espèces bovine, caprine cameline et ovine

.la deuxième partie est basé sur un étude sérologique au niveau de laboratoire de la région de laghouat (L.V.R. L), pendant une période de douze mois;en utilisant l'épreuve de l'antigène tamponné comme test de dépistage et la fixation du complément comme test de confirmation.

Nous avons étudié un total de 15653 prélèvements dont 12544 bovins, 1258 caprins, 1780 prélèvements camelins et 71 prélèvements ovins; provenant de 2200 élevages, dont 1966 bovins, 59 caprins, 166 camelins et 9 ovins.

Chez les bovins, une séroprévalence cheptel de 5.37% et individuelle de 1,35% ; chez les caprins, une séroprévalence cheptel de 33.71% et individuelle de 20.51% , chez les camelins une séroprévalence cheptel de 4.95% et individuelle de 0.4% et chez les ovins séroprévalence cheptel de 22.22% et individuelle de 3.07% ont été retrouvées.

Cette prévalence varie en fonction de l'espèce, de la région, et de certains facteurs de risque liés à la conduite d'élevage.

Mots clés: Brucellose, Bovins, Caprins, Humains, Région centre, Séroprévalence.

SUMMARY

Brucellosis is rived in Algeria since the beginning of the nineteenth century. Up to now, it's continued to spread in our herds and cause enormous economics loses and numberof human cases.

In our study, we were interested in a region of the country, regrouping five departments.

Serological study were done in the laboratorie of the region during twelve month, using the rose Bengal test and the complement fixation test to confirm positive results.

A total of 15653 samples from 12544 cattle, 1258 goats, 1780 camelins and 71 sheep, coming from 2200 herds, including 1966 cattle, 59 goats, 166 camelins and 9 sheep herds, were screened.

The results show that the herd and individual seroprevalences rates are for cattle 5.37% and 1.35% , for goat 33.71% and 20.51% respectively, for camelins 4.95% and0.4% and for sheep 22.22% and3.07% .

This prevalence varied with species, region and some factors risk in the management breeding.

Keywords: Brucellosis, Cattle, Goats, Human, Central region, Seroprevalence.

ملخص

الحممة المالطية متواجدة في الجزائر منذ بداية القرن التاسع عشر. الى يومنا هذا مازلت تنتشر في مواشينا مسببة خسائر اقتصادية فادحة و مسجلة عدة حالات مرضية عند الانسان.

في دراستنا اهتمامنا بالناحية الوسطى للبلاد التي تجمع عشر ولايات. درسنا تطور الحممة المالطية في الناحية عند الابقار و المعز و الانسان خلال العشر سنوات الاواخر اي منذ بداية البرنامج الوطني لمكافحة هذا الداء. لاحظنا ان التطور متغير من سنة لآخرة دون اي تحسن ملحوظ.

قمنا ايضا بدراسة مصلية على مستوى المخبر البيطري للناحية المخبر الجهوي لولاية الاغواط لمدة اثنا عشر شهر باستعمال اختبار الروز بنقال و اختبار تثبيت المتمم للعينات الموجبة.

قمنا بتحليل 15653 عينة منها 12544 ابقار و 1258 معز و 1780 جمال و 71 اغنام اتية من 2200 قطيع منهم 1966 ابقار , 59 معز, 166 جمال 9 اغنام.

النتائج تدل على اننا حصلنا عند الابقار على نسبة اصابة 5.37 % من القطعان و 1.35 % من الافراد. اما عند المعز فوجدنا نسبة اصابة 33.71 % من القطعان و 20.51 % من الافراد. عند الجمال نسبة الاصابة 4.95 % من القطعان و 0.4 % من الافراد و عند الغنم نسبة الاصابة 22.22 % من القطعان و 3.07 % من الافراد هذه النسب تتغير حسب الصنف و المنطقة و بعض العوامل في تسيير القطيع.

INTRODUCTION

A partir de son berceau méditerranéen, la brucellose s'est propagée dans tous les pays du monde. Inévitablement l'Algérie n'a pas échappé à ce fléau.

En effet, dans notre pays, la brucellose touche essentiellement les ruminants domestiques dans tout le territoire. Malheureusement, son impact sur les autres espèces animales reste encore inconnu.

Elle provoque des pertes économiques importantes, à titre d'exemple durant ces trois dernières années, le montant des indemnités pour les 2235 bovins et 5140 caprins abattus était de 83 millions de dinars algériens [42].

Un programme de lutte a été mis en place par les services vétérinaires depuis 1995. Il repose exclusivement sur une prophylaxie sanitaire (dépistage/abattage). Vingt ans plus tard, le taux d'infection du cheptel reste toujours élevé dans tout le pays.

Cette situation inquiétante ainsi que l'importance économique et sanitaire de cette zoonose nous ont incité à nous intéresser à l'étude de la brucellose dans la région centre. A notre connaissance, aucune étude récente n'a été rapportée dans la littérature dans cette région. Nous nous sommes fixés comme objectif principal lors de ce travail, d'évaluer la séroprévalence de la brucellose animale, en particulier bovine camelins caprine et ovine dans la région centre.

Pour cela, nous avons étudié l'évolution de la brucellose, sa situation actuelle, sa distribution, ses aspects cliniques, les facteurs de risque qui contribuent à sa propagation.

Chapitre 01: Définition et étiopathogénie de la brucellose	12
1.1. Définition	12
1.1.1. Origine de la maladie en Algérie	12
1.1.2. Importance	12
1.1.3. Classification de l'agent causal	13
1.1.4. Identification de la bactérie	14
1.1.4.1 Caractères morphologiques de la Brucella :	14
1.1.4.2 Caractères culturaux de la Brucella	14
1.1.4.3 Caractères différentiels des espèces	14
1.1.4.4. Résistance et sensibilité de la Brucella	15
1.2. Pathogénie	16
1.2.1 Conditions de l'infection	16
1.2.2. Étapes de l'infection	18
1.2.3. Réponse Immunitaire	18
Chapitre 02 : Étude épidémiologique de la brucellose	20
2.1. Épidémiologie descriptive	20
2.1.1. La brucellose dans le monde	20
2.1.2. La brucellose en Algérie	20
2.1.3. La brucellose animale	20
2.2. Épidémiologie analytique	21
2.2.1. Sources de contagion	21
2.2.2. Mode de transmission:	22
Chapitre 03 : diagnostic et prophylaxie de la brucellose.	24
3.1. DIAGNOSTIC	24
3.1.1. Diagnostic clinique	24
3.1.2. Diagnostic différentiel	24
3.1.3. Diagnostic expérimental	24
3.1.3.1. Diagnostic direct	24

a - Diagnostic Bactériologique	24
b - Diagnostic Génomique ou Moléculaire (PCR=Polymérase Chain Réactions	24
3.1.3.2.Diagnostic indirect	25
3.1.3.2.1.Mesure de la réponse humorale	25
A. Dans le sang	25
a - Épreuve à l'antigène tamponné ou test du rose Bengale (E.A.T. ou R.B.)	25
b - Séroagglutination en tube de Wright (SAW, SAL, SAT ou TAT)	25
c - Réaction de fixation du complément (F.C.)	25
d -Test immuno-enzymatique ou enzyme-linked immunosorbant assay (E.L.I.S.A ou EIA)	25
B. Dans le lait	26
a- Le Ring Test ou test de l'anneau (R.T.)	26
b- E.L.I.S.A	26
3.1.3.2.2.Mesure de la réponse cellulaire	26
a - Épreuve cutanée allergique à la brucelline (ECA ou IDR)	26
b - EIA-Interféron γ	26
3. 2.Traitement	27
3.3.Prophylaxie	27
CONCLUSION	30

Chapitre 01:

Définition et étiopathogénie de la brucellose

1.1. Définition:

La brucellose est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l'homme, due à des bactéries du genre *Brucella* [1], qui affecte le système réticulo-endothélial [2].

Chez l'animal, c'est une maladie d'évolution aiguë ou chronique touchant les organes de la reproduction, avec une prédilection pour la mamelle et le placenta provoquant des **avortements**, principal symptôme de cette pathologie. Elle provoque aussi des infertilités, des retentions placentaires, des orchites, des épididymites, et des arthrites [3].

Synonymie

☒ Fièvre méditerranéenne.

☒ Fièvre de Malte.

☒ Fièvre de Gibraltar.

☒ Fièvre de Chypre.

☒ Fièvre de Crimée.

☒ Fièvre de Constantinople.

☒ Fièvre de Crète.

☒ Fièvre ondulante.

☒ Fièvre sudoro-algique.

☒ Méliococcie.

☒ Fièvre abortive.

☒ Avortement contagieux.

☒ Avortement infectieux.

☒ Avortement épizootique.

☒ Maladie de Bang (bovin).

☒ Epididymite contagieuse

du belier (ovin).

1.1.1. Origine de la maladie en Algérie :

Dés la découverte de la brucellose en Algérie, plusieurs travaux relient son existence à l'importation de chèvres espagnoles, de chèvres et de vaches maltaises; d'autres expliquent l'introduction de la maladie à l'ouest du pays par les caravanes marocaines [7, 8].

En 1940, Mignot affirma que l'existence de cette maladie dans le Hoggar n'aurait pu avoir pour mode d'introduction que les caravanes maliennes [8].

Les premières descriptions ont été faites en 1895 par Cochez qui soupçonna l'existence de cette maladie à Alger, et en 1899 par Legrain dans la vallée de la Soummam [7, 15].

Au début du XXe siècle l'existence de la fièvre méditerranéenne en Algérie, était soupçonnée depuis longtemps par les médecins praticiens, et fut reconnue par Brault, d'après les symptômes cliniques, puis démontrée bactériologiquement pour la première fois par Gillot. Lemaire, Gillot, Soulié, et Gardon étudièrent à Alger cette maladie, par des procédés de laboratoire [9].

1.1.2.Importance:

La brucellose est reconnue par la F.A.O., l'O.M.S et l'O.I.E. comme étant la zoonose la plus répandue à travers le monde. Cette maladie hautement contagieuse tire son importance:

- 1- de son impact économique considérable dans le domaine des industries animales où elle constitue une contrainte majeure à la production de protéine d'origine animale.
- 2- du risque sévère qu'elle fait peser sur la santé humaine, en se transmettant à l'homme, soit par contact direct avec les animaux infectés, ou plus fréquemment, suite à la consommation de lait ou de produits laitiers contaminés [11].

1.1.3. Classification de l'agent causal :

Selon bergey , le genre Brucella réside dans :

- Le phylum des Protebacteria
- La classe des Alpha-Pratebacteria
- L'ordre des Rhizobiale
- La famille des Brucellacea

Les espèces de Brucella, hotes et répartitions géographique sont synthétisé dans le tableau I.

Tableau 1 : Espèces de Brucella, hôtes et répartitions géographique.[10, 11]

Espèces	Biovars	Hôtes préférentiels	Répartition
B. melitensis	1,2,3	Ovin, caprin, ongulés sauvage (10) Carnivores (10) Chameaux (11) Ongulés sauvages (10) : - Chamois - Bouquetin ibérique	Bassin méditerranée Italie France Espagne
B.abortus	1, 2, 3, 5, 6,9	Bovin(10) Carnivores(10) Equidés(11) Chamois(10) Ongulés sauvages: Bison, Wapiti, Elan(10)	Europe, Amérique, Afrique Toutes zones Italie Canada, USA
B. suis	1 2 3 4 5	Suidés (10) Lièvre, suidés (10) Suidés (10) Rennes (10) Rongeurs sauvages (10) Carnivores (10)	Amérique Latine, Asie, Espagne Europe centrale, France USA, Chine, Espagne USA, Canada, Russie Russie Toutes zones
B.neotomae		Neotomes (10) Rongeurs sauvages	USA USA
B.ovis		Ovin (males) Equidé	Bassin méditerranéen
B.canis		Chien	Etats-Unis, Amérique de sud, Europe, USA
B.ceti		Cétacés	USA
B.pinnipedi		Penipedialis	
B.microti		Campagnole, renards	République tchèque

1.1.4. Identification de la bactérie :

1.1.4.1 Caractères morphologiques de la Brucella :

Brucella est une petite bactérie gram négatif de forme cocco bacillaire, mesurent 0.6 à 1.5 µm x 0.5 à 0.7 µm de diamètre. Les bactéries se trouvent soit séparées, en paires ou en amas.

Elles sont non flagellées, non capsulées et non sporulées. Une enveloppe externe a été démontré par le microscope électronique autour du B.abortus, B.suis, B. melitensis [13, 14].

1.1.4.2 Caractères culturels de la Brucella

Leur croissance nécessite un milieu enrichi. certaines souches nécessitent une atmosphère contenant 5 à 10% de CO₂. la température de croissance optimale est de 34 C°.

Brucella est une bactérie aérobie stricte, catalase positive, oxydase habituellement positive, la plus part des souches isolées en pathologie humaines produisent une uréase d actions rapide et intense [15].

Du fait d une faible réactivité biochimique, l'identification API-NE peut conduire à de faux résultats avec moroxella phenylpyruvca.

Leur pH de croissance se situe entre 6,6 et 7,4 (pH optimale de 6,8) et la concentration maximale en NaCl tolérée est de 1%.

La croissance des Brucella dans le milieu liquide. Dans les incubations 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, 43].

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, 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 [13, 14, 15, 16, 17, 18,19].

1.1.4.3 Caractères différentiels des espèces

Les caractères différentiels entres les espèces et les biovars se basent sur les résultats fournis par trois tests : L'exigence en CO₂, production d H₂S et la sensibilité à la thionine et la fuchisine à des concentrations déterminé. L'antigène le plus immunogène des brucellas est le lipopolissacharide, il se caractérise par une variation de ses phases, c'est à dire les phénotypes lisses S-LPS et les phénotypes rugueux R-LPS. Le S-LPS est retrouvé à l'état sauvage chez la plupart des espèces et biovars. Ces variations morphologiques sont le résultat de mutations spontanées et elles sont aussi influencées par des facteurs de croissances

1.1.4.4. Résistance et sensibilité de la Brucella

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 [15].

Tableau 2 : Résistance et sensibilité de la Brucella . [1]

Milieu	Température/Environnement	Viabilité
Rayonnement solaire direct	< 31°C	4h30
Sol	Sec Humide Froid	4 jours 2 mois 5-6 mois
Eau	-4°C 37°C	4 mois < 1 jour
Fœtus	A l'ombre	6 mois
Urine	37,5°C 8°C	16 heures 6 jours
Fumier	Été 25°C Hiver (-3 à 8°C)	1 jour 1 mois 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
Pâture	Ensoleillée Ombragée	15 jours 35 jours
Lait	72°C 35-37°C 0°C	5-15 secondes 1 jour 18 mois
Fromages	Selon type	6jours à 6 mois

1.2.Pathogenie :

1.2.1Conditions de l'infection:

1.2.1.1.Facteurs tenant aux Brucella:

L'évolution, la fréquence et l'intensité de l'infection dans l'organisme dépendent de la voie, de la dose et de la souche infectantes [24, 25, 26], ce qui fait de la contamination initiale un facteur décisif de la gravité et de la durée de la maladie [26].

1.2.1.1.1.Facteurs qualitatifs: le pouvoir pathogène des Brucella varie selon les espèces, B.melitensis étant la plus pathogène [20].Les variations du pouvoir pathogène d'une souche à l'autre pourraient être liées à la richesse en polysaccharides [3]. Au sein même d'une espèce, la pathogénicité de ses multiples biovars diffère [23].

1.2.1.1.2. Facteurs quantitatifs: des études effectuées sur des souris ont également prouvé l'importance de la dose infectante [25, 26]. Les fréquences d'avortement sont également plus importantes lorsque la dose infectieuse est plus élevée. Ces notions soulignent la gravité des contaminations massives observées chez les animaux en contact avec des femelles venant d'avorter [3].

1.2.1.1.3. Facteurs tenant à l'hôte ou réceptivité et sensibilité:

a) Espèce:

Chaque espèce de *Brucella* a son propre «hôte principal», «habituel» ou «préférentiel», ceux de *B. melitensis* sont les ovins et les caprins. *B. abortus* infecte essentiellement les bovins, *B. suis* atteint principalement les porcs, l'infection à *B. ovis* concerne exclusivement les ovins et *B. canis* les chiens.

Le cheval et le chien peuvent aussi développer une infection due aux 3 espèces principales de *Brucella*.

Expérimentalement le lapin, le rat, la gerbille, le hamster, le cobaye et la souris peuvent être infectés par *Brucella*.

L'homme est sensible à toutes les espèces de *Brucella* mais aucun isolement de *B. ovis* n'a été signalé chez ce dernier [4, 5, 6, 42, 23].

b) Race:

Il existe des variations dans la réceptivité des animaux, tant chez les ovins que chez les caprins, du fait de la race [4]. Les ovins, à la différence des caprins, présentent une réceptivité variable selon les races, les races laitières sont généralement plus sensibles que les races à viande [20].

Pour les bovins, il ne semble pas exister de races bovines plus résistantes que d'autres à l'infection brucellique [6].

c) Age:

Trois périodes peuvent être individualisées dans l'évolution de la sensibilité:

- **Période foetal:** l'infection du foetus in utero se solde par une septicémie mortelle et l'avortement. Cette sensibilité diminue toutefois en fin de gestation, permettant, lors de contamination de faible intensité, la naissance d'un veau viable mais infecté.

- **Période pré-pubère:** la brucellose est exceptionnelle chez le veau qui d'une part guérit souvent de son infection, d'autre part ne développe qu'une réaction sérologique discrète et transitoire. Si l'animal jeune pré-pubère est bien réceptif, sa sensibilité à l'infection est nulle, la maladie n'est jamais exprimée à ce stade. Il devient ensuite tout à fait sensible lorsqu'il parvient à la maturité sexuelle.

- **Période post-pubère:** la période de sensibilité maximale est atteinte après un complet développement des organes génitaux: la brucellose est une maladie des animaux pubères ou

adultes. Ces animaux peuvent rester infectés pendant toute leur vie, malgré la réponse immunitaire qu'ils développent. Il est d'observation courante que l'incidence de la brucellose augmente avec l'âge, en relation avec la vie sexuelle des animaux, plus l'animal vit longtemps dans un milieu infecté, plus grands sont les risques qu'il a de s'infecter [3, 4, 6, 42, 21, 22, 23, 20].

d) Sexe:

Aucune étude en conditions contrôlées n'a montré que les mâles soient plus résistants que les femelles, bien que cela ait été suggéré [6]. Les vaches surtout gestantes, sont plus sensibles. Les taureaux sont également sensibles, bien que certains chercheurs soutiennent qu'ils sont plus résistants à l'infection que les femelles. Par ailleurs, les animaux castrés des deux sexes ne jouent aucun rôle dans l'épizootologie de la brucellose, car ils ne peuvent pas transmettre les *Brucella* aux autres animaux [22].

e) État physiologique:

La gestation est un facteur important de sensibilité. On estime par exemple qu'une vache adulte contaminée hors gestation a la possibilité dans près de 50% des cas de ne développer qu'une infection de courte durée spontanément curable [3].

f) Différence individuelle:

Il existe des variations importantes de sensibilité d'un individu à l'autre.

Expérimentalement, l'administration d'une quantité moyenne de *Brucella* ainsi que naturellement sur terrain, tous les intermédiaires peuvent être observés entre l'infection aiguë typique, avec avortement et la résistance totale à l'infection (absence d'infection), en passant par diverses formes chroniques plus ou moins exprimées [3, 7, 22].

1.2.2.Étapes de l'infection:

1.2.2.1.Période primaire:

Cette période suit la contamination, elle peut passer inaperçue (infection inapparente) ou se traduire par des symptômes variés qui caractérisent cliniquement la «brucellose aiguë», par exemple l'avortement. Elle évolue en trois étapes:

a) Etape de multiplication loco-régionale: elle est définie par la multiplication des *Brucella* dans les groupes ganglionnaires de la porte d'entrée [3].

b) Etape de dissémination: des bactéries persistent pendant une longue période dans les nœuds lymphatiques qui drainent le site d'inoculation, et si *Brucella* n'est pas éliminée à cette étape, au bout d'un délai variable de quelques jours à quelques semaines, le germe se dissémine, en empruntant les voies lymphatique et sanguine [3].

c) Etape de localisation: elle se traduit par la localisation et la multiplication des *Brucella* en certains sites électifs, ce sont:

- Les organes riches en éléments du système réticulo-histiocytaire comme la rate et le foie.
- Les organes génitaux c'est-à-dire l'utérus gravide chez la femelle, les testicules et annexes chez le mâle.
- La glande mammaire.
- Les bourses séreuses et synoviales et certaines articulations.

Ces localisations peuvent s'accompagner de manifestations cliniques caractérisant la brucellose aiguë: avortement, orchite ou épididymite, etc. Elles permettent aussi pour certains (utérus gravide, appareil génital mâle, mamelle), l'excrétion des *Brucella* et leur dissémination [3].

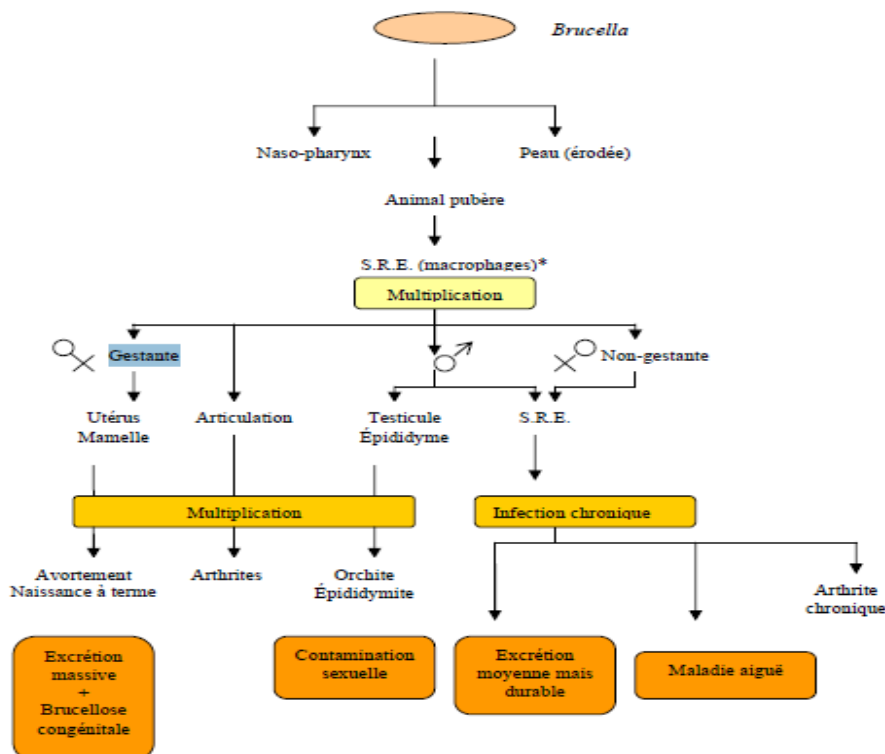
1.2.2.2. Période secondaire:

Cette période est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement de l'immunité. Deux issues sont possibles: la guérison ou la persistance des *Brucella*.

1.2.3. Réponse Immunitaire:

La réaction de l'hôte à l'infection se traduit généralement en période post-pubère par une réponse immunitaire humorale et une réponse immunitaire à médiation cellulaire.

La réponse sérologique est en revanche fugace et faible, voire indécélable chez les jeunes impubères [5, 6].



* SRE: système réticulo-endothélial

Figure1 : Évolution de la brucellose chez un individu [20]

Hypersensibilité retardée:

L'immunité à médiation cellulaire est associée à la réaction d'hypersensibilité retardée (H.S.R.), cette dernière apparaît généralement parallèlement à l'activité bactéricide des macrophages au cours de l'infection, elle est d'apparition à peu près contemporaine de celle des anticorps, elle persiste en revanche en période de brucellose chronique, et peut également se produire en l'absence d'immunité protectrice efficace.

Des réactions H.S.R. spécifiques du genre *Brucella* peuvent être induites par infection, immunisation avec des vaccins vivants et immunisation avec des vaccins avec adjuvant, par injection de bacilles (vivants ou morts) ou d'extrait bactériens (cas de la brucelline composée de protéines provenant de cytoplasme bactérien) [3, 15].

Cet état d'H.S.R. témoigne de la persistance des bactéries dans certaines cellules du système réticulo-endothélial. Il peut d'ailleurs participer à la pathogénie de certaines

Chapitre 02 :

Étude épidémiologique de la brucellose.

2.1.Épidémiologie descriptive :

2.1.1.La brucellose dans le monde :

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 et septentrionale, le Canada, le Japon, l'Australie et la Nouvelle-Zélande semblent être indemnes de l'agent causal [27, 28].

2.1.2.La brucellose en Algérie :

Les premières études faites en Algérie sur la brucellose animale remontent à 1907. Ils indiquent la présence de la brucellose chez les caprins.

Depuis, plusieurs études ont été menées dans les différentes régions et wilayas du pays et l'application d'un programme de lutte basé sur une prophylaxie sanitaire concernant les bovins et les caprins a débuté en 1995. [10].

2.1.3.La brucellose animale :

L'évolution du taux d'infection de la brucellose bovine depuis le début du programme montre une certaine amélioration du taux d'infection. Le taux est passé de 1,70% en 1995 à 0,67% en 2004. Afin d'évaluer la fréquence de la brucellose des petits ruminants, une enquête par sondage sérologique sur un échantillon représentatif des troupeaux ovins, caprins et mixtes a été réalisée durant l'année 2000-2001, notamment à Batna, Biskra, Khenchela, M'Sila, Adrar, Djelfa, Ghardaïa, Laghouat, El Bayadh, Nâama, Saïda, Tiaret, Tlemcen et El Oued.

Il en ressort une prévalence de 3,63% chez les ovins, 9,58% chez les caprins, et 3,82% pour les élevages mixtes.

Depuis, plusieurs cas sont enregistrés annuellement dans différentes régions du pays adoptant parfois une allure épidémique, ainsi :

- Entre 1986 et 1990 : à l'ouest, le laboratoire de Tlemcen a recensé 402 cas de brucellose confirmés sur 928 sérums testés.
- En 2002, 250 personnes habitant dans la wilaya de Tiaret ont contracté la maladie suite à la consommation de lait crû et de produits laitiers infectés.
- En 2004, 45 cas humains ont été déclarés dans une épidémie dans la wilaya de Laghouat.

- Entre 2004 et 2005 une incidence de 9,12 et 2,47 cas /100000 habitant à été enregistrée dans les wilayas de Médéa et Ain-defla respectivement.
- En 2010, l'incidence de la brucellose à l'échelle nationale à été estimée à 13 cas par 100000 habitants.
- En 2013, le laboratoire de Laghouat a recensée 266 cas de brucellose confirmées sur 13701 sérum ressee.
- En 2014, le laboratoire de Laghouat a recensée 339 cas de brucellose confirmées sur 18837 sérum ressee.

2.2.Épidémiologie analytique:

2.2.1.Sources de contagion: [1, 3, 12, 14, 21]

Elles sont constituées par les animaux infectés et transitoirement par le milieu extérieur contaminé par les animaux, en plus des denrées alimentaires contaminées pour l'homme.

Animaux infectés (contamination directe) :

Tout animale malade apparemment sain constitue une source potentielle de brucella , il peut on outre résté porteur de germe et contagieux durant toute son existence. C'est ainssi que que chez les brebis non gravide , brucella peut provoqué une infection cronique non apparente cliniquement et sans excretion vaginale. L'entretien des chevre et des mouton aux sains d'enclos ou le animeaux se rassemble frequement ,la nuit notamment,est propice à la diffusion de l'infection par ce biais .

Contenu de l'utérus gravide:

Expulsé dans le milieu extérieur au moment de l'avortement ou à l'occasion d'une mise bas apparemment normale, le contenu de l'utérus gravide représente la matière virulente essentielle. Cette excrétion est transitoire: elle débute dès la préparation de femelle lors de liquéfaction du bouchon muqueux, passe au maximum lors de l'expulsion des eaux foetales, avorton, placenta et lochies ; disparaît au bout de 2 à 3 semaines.

Secrétions vaginales:

Leur rôle est surtout reconnu dans la période qui précède et qui suit un avortement ou une mise bas ou en période d'oestrus.

Colostrum et lait:

20 à 60% des vaches sérologiquement positives, sans symptômes de brucellose, éliminent le germe dans le colostrum et le lait et ce taux s'élève à 70-80% après un avortement.

Sperme:

Même en l'absence de symptômes, la localisation des Brucella dans les organes génitaux du mâle permet leur excrétion dans le sperme.

Urine:

Elle est fréquemment virulente au moment de l'avortement par contamination au contact des sécrétions utérines virulentes.

Fèces:

Elles permettent parfois chez le jeune nourri avec du lait infecté, une dissémination transitoire de l'agent infectieux.

Produits de suppuration:

Les Brucella sont présentes dans le produit de suppuration. Les hygromas par exemple peuvent renfermer d'importantes quantités de germes, libérées à la suite de ponction.

Matières virulentes internes:

Les Brucella peuvent être présentes dans les viscères, mamelle, les muscles, les os, la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques des carcasses infectées, et ceux pendant plus d'un mois après l'abattage.

Milieu contaminé:

Le milieu extérieur peut être massivement contaminé lors de l'avortement ou la mise bas des femelles infectées et la résistance des Brucella lui confère un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie.

Denrées alimentaires:

Les produits alimentaires non traités par la chaleur et ceux préparés à partir de produit crus provenant de troupeaux infectés comme le lait ou la viande provoquent l'infection chez l'homme.

2.2.2.Mode de transmission:**a- Voies de pénétration:**

De nombreuses portes d'entrée sont possibles chez les animaux comme chez l'homme:

Cutanée, muqueuses, conjonctivale, respiratoire, digestive et vénérienne.

Voie digestive :

C'est la voie la plus fréquente en raison du léchage des avortons, des nouveau-nés et des produits du part infectés, ainsi que l'ingestion d'aliments, d'eau, de colostrum ou de lait contaminé.

Voie cutanée :

Les brucella traverser la peau saine et à plus forte raison la peau excoriée , il s'agit d'une voie de pénétration importante

Voie conjonctivale :

Le germe transverse facilement la muqueuse conjonctivale à la faveur de l'inoculation de la souche vaccinale ou de la projection d'une gouttelette virulente.

Voie respiratoire :

Cette porte d'entrée est importante dans les locaux d'élevages où les animaux inhalent , soit de véritables aérosols infectieux soit des micro-particules virulentes en suspension dans l'air lors d'un changement de litière ou de transhumance .

Voie vénérienne :

Le mâle peut jouer le rôle de réservoir excréteur de brucella ou celui d'un simple vecteur après souillure des muqueuses à l'occasion d'un coït avec une femelle brucellique .

Contamination interhumaine :

Contamination interhumaine d'origine vénérienne est exceptionnelle en revanche , différents cas de transmission ont été rapportés par certains auteurs : par transfusion sanguine ou par greffe de la moelle osseuse , congénitale in utero ou pendant l'accouchement , transmission au nouveau-né par le lait maternel d'une mère infectée et enfin , l'infection d'un obstétricien par un nouveau-né infecté , lors de la délivrance . [21, 30, 31, 32, 33]

b- Transmission verticale:

L'infection congénitale peut se réaliser in utero ou lors du passage du nouveau né dans la filière pelvienne prouvé chez les animaux comme chez l'homme. [15].

c- Transmission horizontale:**Directe:**

À la faveur de contacts directs entre individus infectés et individus sains lors de cohabitation , d'ingestion du lait virulent qui est un mode de contamination fréquent du jeune , et lors de contamination vénérienne par le mâle .

Indirecte :

Par l'intermédiaire de l'environnement et des supports inanimés contaminés ainsi que les animaux ayant le rôle de transporteurs mécaniques.

-Chapitre 03 :

diagnostic et prophylaxie de la brucellose.

3.1.DIAGNOSTIC

3.1.1.Diagnostic clinique:

Éléments de suspicion:

Les éléments majeurs sont l'avortement (quelque soit le stade de gestation) isolé ou en série, et chez le mâle l'orchite et/ou l'épididymite.

Les autres éléments de suspicion sont:

- mort d'un veau avec symptômes d'anoxie dans les 48 heures suivant la mise-bas;
- fréquence anormale des rétentions placentaires; - hygroma.

En fait, tous ces symptômes peuvent être révélateurs de maladies très variées que seul, le recours au laboratoire permet d'identifier. [1].

3.1.2.Diagnostic différentiel:

Un avortement peut avoir des causes très variées : mécanique (traumatisme, transport...), toxique, alimentaire, parasitaire (néosporose, trichomonas chez les bovins soumis à la monte naturelle, aspergillose...), infectieuse (campylobactériose, salmonellose, fièvre Q, chlamydie, listériose, leptospirose, rhino trachéite infectieuse, maladie des muqueuses...).

L'orchi-épididymite: à différentier en particulier chez le bélier de l'infection par B.ovis [1, 3].

3.1.3.Diagnostic expérimental:

3.1.3.1.Diagnostic direct:

Tableau 3: principale méthodes utilise pour le diagnostique expérimentale directe de la brucellose .[2,16,34]

	Diagnostic	Prélèvements
Diagnostic Bactériologique	repose essentiellement sur les épreuves bactériologiques qui révèlent les caractères phénotypiques de la bactérie [2,16].	Le sang ,le lait ,écouvillon vaginal ,tissus (organes et ganglions) ,liquide stomacal ,membranes foetales et avorton, sperme et le liquide synovial. [2,16].
Diagnostic Génomique ou Moléculaire (PCR=Polymérase Chain Réactions)	une méthode de valeur pour détecter l'ADN de différents micro-organismes et promet une option de diagnostic pour la brucellose [34].	tissus (avorton et les tissus maternels), sang, lait, sécrétions nasales et au sperme [34].

3.1.3.2. Diagnostic indirect:

3.1.3.2.1. Mesure de la réponse humorale:

A. Dans le sang:

Tableau 4 : principale méthodes utilise pour le diagnostique expérimentale indirecte de la brucellose .[3,15,35,36,43]

Test	Diagnostique	Anticorps détectés	Temps nécessaire pour la positivité des résultats .
Épreuve à l'antigène tamponné ou test du rose Bengale ou agglutination rapide sur lame (E.A.T. ou R.B.)	Ce test qualitatif met en évidence les anticorps sériques agglutinants dirigés contre le lipopolysaccharide (LPS) bactérien de <i>B. Abortus</i> , <i>melitensis</i> et <i>suis</i> , par interaction avec un antigène brucellique coloré mis en suspension dans un milieu acide tamponné	IgM, IgG1 et IgG2	3 à 4 semaines [3, 35, 36].
Séroagglutination en tube de Wright ou agglutination lente en tube (SAW, SAL, SAT ou TAT):	Le titre en anticorps d'un sérum est déterminé par l'agglutination d'une suspension de <i>Brucella</i> inactivée par le formol et la chaleur	IgM, IgG1	3 semaines [43].
Réaction de fixation du complément (F.C.)	Ce test quantitatif met en évidence les anticorps fixant le complément	IgG1 IgM	Longue [15].
Test immuno-enzymatique ou enzyme-linked immunosorbant assay (E.L.I.S.A ou EIA):	Utilisation des antigènes de <i>Brucella</i> purifiés et des réactifs anti-immunoglobulines spécifiques et sensibles, ce qui permet de titrer les classes et les sous-classes d'anticorps anti- <i>Brucella</i> à l'égard d'antigènes définis [15].	IgG1 IgA IgM Anti-LPS	Tardif [15].

B. Dans le lait:

a- Le Ring Test ou test de l'anneau (R.T.):

Habituellement le RT est utilisé sur le lait de mélange (jusqu'à 200 vaches).

Il s'agit surtout d'un test collectif permettant le dépistage des troupeaux laitiers infectés et ayant l'avantage d'être pratique, rapide et peu coûteux, donc de pouvoir être facilement renouvelé. En milieu largement infecté sa sensibilité serait de l'ordre de 56% et sa spécificité de 99,9%. Parmi les inconvénients: le nombre élevé de réactions douteuses, erreurs par excès, erreurs par défaut [3].

b- E.L.I.S.A:

Alors que le Ring test est inutilisable sur le lait de chèvre ou de brebis, l'ELISA a par ailleurs été proposée par plusieurs auteurs pour le dépistage individuel ou de mélange dans ces espèces . Réalisable sur le lait de mélange, elle permet en outre d'étayer aisément une réaction positive ou douteuse observée en RT . Mais due au faible taux et fréquence des anticorps anti Brucella dans le lait, le test manque de sensibilité comparé à ses performances sur le sérum .

3.1.3.2. Mesure de la réponse cellulaire:

Les épreuves sérologiques de dépistage de la brucellose sont basées sur la détection des anticorps anti-lipopolysaccharide (LPS). Du fait de la proximité antigénique entre le LPS de Brucella et le LPS d'autres bactéries (*Yersinia enterocolitica* 0:9) ces tests manquent de spécificité. La mesure de l'immunité à médiation cellulaire s'est révélée être un complément non négligeable en raison de sa grande spécificité et de sa précocité [37].

a-Épreuve cutanée allergique à la brucelline (ECA ou IDR):

La brucelline est un allergène destiné au diagnostic de la brucellose par la mise en évidence d'une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée chez les animaux sensibilisés par l'infection.

L'injection de ce produit ne provoque pas de réaction chez les animaux indemnes de brucellose et n'ayant pas été vaccinés [34].

b-EIA-Interféron γ :

C'est une mesure in vitro de l'immunité à médiation cellulaire qui pourrait pallier les inconvénients de l>IDR. Elle semble être en excellente corrélation avec la mesure in vivo de l'HSR.

La disponibilité d'un test immuno-enzymatique de dosage de l'IFN γ bovin a permis d'investiguer l'utilité de cette approche dans le cadre du diagnostic de la brucellose. Les échantillons de plasma sont dosés pour leur contenu en IFN γ en utilisant ce test immunoenzymatique [37].

3. 2.Traitement :

Chez l'animal:

Aucun traitement économiquement supportable n'étant réellement efficace, le traitement des brucelloses bovine, ovine et caprine est formellement interdit par la réglementation [5]. Tout animal atteint par la brucellose doit être abattu [37].

Brucella est sensible aux antibiotiques, notamment aux tétracyclines, le traitement de la brucellose animale est théoriquement possible. Cependant, l'administration d'antibiotiques est rigoureusement interdite par les autorités sanitaires en raison de son coût prohibitif, du risque accru d'apparition de Brucella résistantes aux antibiotiques, dangereuses pour l'animal comme pour l'homme, ainsi que, l'absence de garantie quant au statut infectieux de l'animal traité [6].

- Le triméthoprim-sulfaméthoxazole: possède une bonne pénétration dans les tissus infectés.
- La streptomycine: a une action synergique avec les tétracyclines.. Elle potentialise l'action des cyclines. Cependant lors de résistance, on préconise l'utilisation de gentamycine ou kanamycine [39, 40]

3.3.Prophylaxie :

La brucellose est surveillée et réglementée chez les bovins, ovins, caprins et porcins et fait l'objet de notifications nationale, à la Commission Européenne et à l'OIE.

Tout signe clinique évocateur notamment des avortements doit faire l'objet d'investigations complémentaires pour rechercher la brucellose.

Les élevages de bovins, ovins et caprins sont régulièrement contrôlés par des dépistages sérologiques et le sont annuellement pour les élevages fabriquant des produits au lait cru.

L'éradication de la maladie en France est le fruit d'une longue lutte menée depuis les années 60 dans les élevages de ruminants. Désormais, en cas de confirmation de brucellose, tous les animaux sensibles à la maladie dans un troupeau reconnu infecté sont abattus, les produits détruits.

La vaccination des animaux contre la brucellose est interdite en France car elle fausse le dépistage par sérodiagnostic. Le traitement est interdit car il pourrait conférer une résistance chez les animaux sans éliminer l'excrétion de la bactérie [37].

Synthèse des mesures : [37].

Mesures de prévention :

- hygiène générale des élevages
- liées à la brucellose: dépistages réguliers obligatoires des animaux (sur sang ou le lait)
- surveillance des avortements dans les élevages

- formation et information des salariés sur les risques liés à la brucellose

Mesures de lutte :

La brucellose appartient au groupe des maladies de catégorie 1 et est réglementée par le Code rural et par arrêtés ministériels :

Lors de suspicion :

- Mise sous surveillance du cheptel (animaux, bâtiments, lait et produits laitiers,...)
- Séquestration et isolement des animaux malades,
- Interdiction de la vente du lait cru ou du fromage frais de ces exploitations.

Lors de confirmation :

- Abattage des animaux contaminés et éventuellement de tout le troupeau
- Destruction ou traitements thermiques des produits
- Désinfection des locaux et des effluents contaminés.

Situation épidémiologique	Type de stratégie	Vaccination	Abattage des animaux séropositifs	Mesures prophylactiques	Méthodes de surveillance	Objectifs	Avantages	Inconvénients
A Prévalence élevée	Médicale	Oui	Non	Vaccination générale de masse Appui aux services vétérinaires Utilisation rationnelle des ressources Contrôle des déplacements	Sérologie décevante (test appropriés) Bactériologie Suivie de l'incidence chez l'homme	Réduire la prévalence Passer à B	Faible coût Facile à réaliser Établissement rapide de l'immunité des élevages	Avortement des femelles gestantes Tests sérologiques incapable de différencier les animaux vaccinés des animaux infectés Santé publique?
B Prévalence modérée	Mixte ou Médico-sanitaire	Oui	Recommandé	Vaccination des jeunes Abattage des animaux positifs aux tests sérologiques	Recensement et identification des animaux Contrôle sérologique Suivi bactériologique Communication active Coopération avec ministère de la santé	Contrôle vers l'éradication Passer à C	Minimum d'avortements Les tests sérologiques sont capables de différencier entre animaux infectés et animaux vaccinés	Établissement lent de l'immunité des élevages
C Prévalence faible < 1%	Sanitaire	Exclue	Obligatoire	Dépistage /abattage	Surveillance dans les étables et aux abattoirs Suivi sérologique Enquêtes dans les groupes cibles	Éradication Atteindre D	Élimination de la maladie	Coût élevé Nécessite des services vétérinaires compétents
D Absence de maladie	Maintenir la situation	Non	Non	Contrôle des mouvements Contrôle des importations	Surveillance des indicateurs de risque	Surveillance Maintenir cet état		

CONCLUSION

Depuis sa découverte par Bruce en 1887, *Brucella* regroupe aujourd'hui huit espèces.

Les progrès de la biologie moléculaire ont révolutionné la taxonomie qui suggère en réalité une seule espèce. Les *Brucella* ont été retrouvées chez de nombreuses espèces animales domestiques et sauvages, dont le spectre s'est élargi récemment aux mammifères marins.

Elles provoquent principalement des avortements chez les femelles gestantes et des orchites chez les mâles. Bactérie intracellulaire, elle affecte le système réticulo-endothélial en induisant une immunité humorale et cellulaire.

Retrouvées également chez l'homme, elles induisent des symptômes graves, n'épargnant aucun organe.

Elles se transmettent à l'homme par contact direct avec des animaux malades ou par ingestion de lait cru contaminé ou ses dérivés. Les transmissions interhumaines sont exceptionnelles .

La brucellose, qualifiée de zoonose majeure est une maladie de répartition et d'importance mondiale. Elle s'est propagée dans tous les continents et les pays du monde, provoquant de lourdes pertes économiques.

En Algérie, elle sévit depuis le début du 19^{ème} siècle dans nos élevages dans toutes les régions du pays, provoquant de nombreuses épidémies dans la population.

Plusieurs moyens de diagnostic ont vu le jour, de la séroagglutination de Wright à la PCR et de nombreux vaccins aussi.

Les méthodes sérologiques utilisées dans la lutte de cette maladie restent encore incapables de différencier les anticorps vaccinaux des anticorps infectieux ou ont l'inconvénient d'avoir des réactions croisées avec d'autres bactéries, donnant ainsi des réactions faussement positives qui interfèrent dans la lutte.

Le choix de la stratégie de lutte repose sur la prévalence enregistrée et les moyens disponibles, afin de décider d'une prophylaxie médicale, mixte ou sanitaire.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Introduction et objectif:

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire vétérinaire régional (L.V.R.) de Laghouat W.de Laghouat, pendant une durée de 12 mois allant du 01 janvier 2014 au 01 janvier 2015. L'analyse des prélèvements provenant des différentes wilayas (**Laghouat, Djelfa, Ghardaïa, El-Bayadh, Ouargla**) pendant cette période a été effectuée quotidiennement. L'étude concerne le diagnostic sérologique de la brucellose par les techniques suivantes : Épreuve à l'Antigène Tamponné ou Rose Bengale test, Fixation du complément et la réalisation d'une enquête pour la séoprévalence de la brucellose.

Le diagnostic a touché 18837 échantillons d'espèce différente (Bovins, Caprins, Camelins, Ovins) réparti sur 2466 lots venus des cinq wilayas suivantes: **Laghouat, Djelfa, Ghardaïa, El-Bayad, Ouargla.**

2. Matériel et méthodes :

2.1. Les prélèvements:

Les prélèvements de sang sont réalisés par les vétérinaires des différentes inspections des wilayas concernées par l'étude et cela dans le cadre de dépistage de la brucellose. Le sang est récolté dans des tubes secs et acheminés dans une glacière + 4°C et envoyés au laboratoire pour les analyses sérologiques.

2.2. Méthodes : à leur arrivée au laboratoire, les échantillons ont suivis les étapes suivantes :

Centrifugation à 3000 tours pendant 10 minutes. Pour séparer le sérum du culot. Puis soumis à:

2.2.1. Test de dépistage: (test qualitatif) est le test de **rose Bengale ou test de l'EAT**. Pour les sérums bovins et camelins, lorsqu'ils sont positifs à ce test, ils sont transvasés dans des aliquotes afin d'être congeler pour effectuer la deuxième technique.

2.2.2. Test de confirmation ou de contrôle: (quantitatif) est l'épreuve de la **fixation du complément**, elle est appliquée uniquement sur les échantillons reconnus positif à l'EAT. Lorsque le sérum est positif à cette technique, l'animal est déclaré comme séropositif.

NB : Selon la législation: pour les bovins et camelins, il faut que les deux tests soit positifs. Mais pour les caprins, l'EAT suffit pour déclarer un prélèvement comme positif.

❖ Épreuve à l'Antigène Tamponné ou Rose Bengale test

Les 18837 échantillons d'espèce différent récoltés (Bovins, Caprins, Camelins, Ovins, Gazelle) ont été réparti sur 2466 élevages (2116 élevages bovins, 193 élevages caprins, 125 élevages camelins et 31 élevages ovins) venus des wilayas de Laghouat, Djelfa, Ghardaïa, El-Bayad et Ouargla.

Les 18837 échantillons sont composés de :

- 15761 prélèvements bovins,
- 1558 prélèvements caprins,
- 1154 prélèvements camelins,
- 151 prélèvements ovins;

Technique suivie:

Principe de l'épreuve:

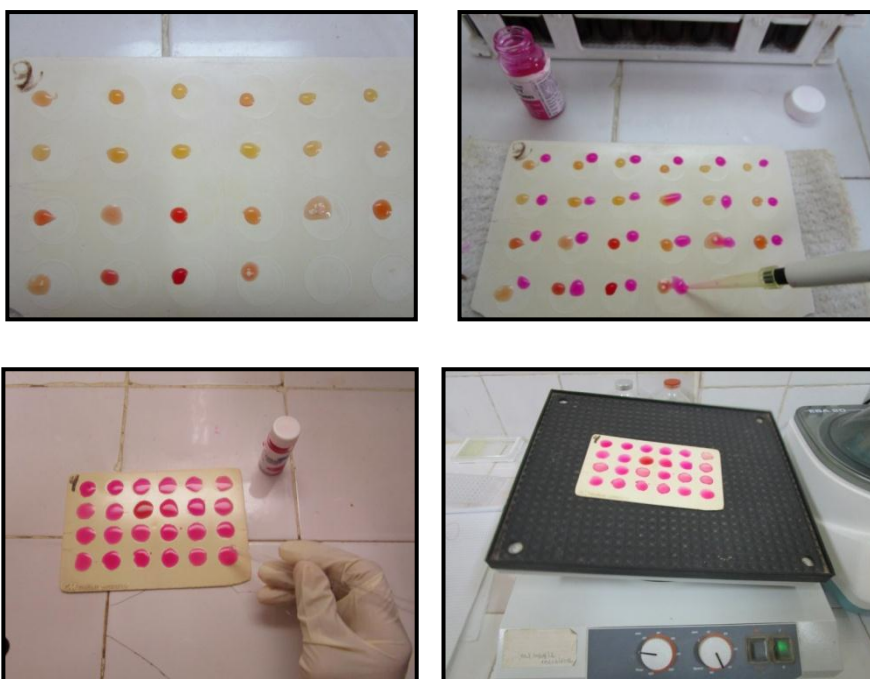
-effectuer l'épreuve sur des sérums purs et non chauffés.

-Laisser 30 minutes avant l'emploi et à température ambiante, les sérums à examiner et la quantité d'antigène nécessaire pour les examens (agiter doucement l'antigène de manière à obtenir une suspension homogène).

- Déposer sur la plaque côte à côte le même volume, de sérum pur et d'antigène. 30µl de sérum + 30µl d'antigène.

- Mélanger rapidement le sérum et l'antigène.

- Placer la plaque sur l'agitateur basculant pendant 4 minutes.



Figures 2 : Les étapes de l'E.A.T.

Lecture

La lecture est réalisée immédiatement après l'arrêt de la plaque sous un bon éclairage et à l'œil nu. Ne pas tenir compte des agglutinats qui apparaissent après 4 minutes.

Interprétation

- Absence d'agglutinats = NEGATIF
- Présence d'agglutinats (même très fins)= POSITIF

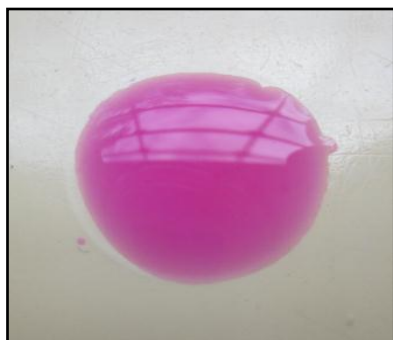


Figure 3: Résultat négatif

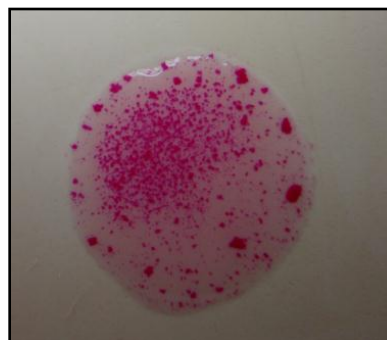


Figure 4: Résultat positif

❖ Épreuve de fixation du complément: (Méthode en plaques de microtitration)

Le test est réalisé sur 277 échantillons d'espèce différente (Bovins, Camelins) (277 échantillons positifs par le premier test sur les 18837 récoltés) réparti sur 162 lots venus des wilayas de Laghouat, Djelfa, Ghardaïa, El-Bayad et Ouargla, dont 270 prélèvements bovins et 7 prélèvements camelins, provenant de 162 élevages, dont 156 élevages bovins et 6 élevages camelins.

Technique

Titration du complément:

- Effectuer en tubes comme pour la méthode de fixation du complément en tube soit:
- Reprendre le complément lyophilisé par la quantité de solvant indiquée.
- Faire une dilution à 1/100 en tampon véronal (0,1ml dans 9,9 ml de T.V.).
- Répartir en tube selon le schéma (voir appendices).

* Préparer les éléments du couple hémolytique (suspension de globules rouges et solution de sérum hémolytiques) en quantité suffisante pour le titrage du complément et les examens.

Couple hémolytique: obtenu à partir d'un mélange à parts égales de:

- Suspension d'hématies à 2,5% soit 0,5 ml d'hématies (déjà dilué à 50%) plus 9,5 ml de tampon véronal
- sérum hémolytique dilué selon titrage.
- Mélanger 20 minutes avant l'emploi des quantités nécessaire pour le titrage du complément et laisser à la température du laboratoire (garder à +4°C jusqu'au lendemain et séparément le reste des éléments du couple)
- Centrifuger immédiatement les tubes à la sortie du bain marie pendant 10 minutes à 500-100g. Faire un témoin hémolyse H50 (0,50 ml du surnageant du témoin hémolyse H0 et 0,50 ml du surnageant du témoin hémolyse H100).
- Prendre comme unité H50 le premier tube de la gamme dont le surnageant présente la même coloration que le témoin H50 ainsi préparé.

Épreuve:

- Inactiver les sérums par chauffage au bain-marie à 60°C pendant 30 minutes
- Diluer les sérums à examiner et les sérums témoins à 1/4 en tube ou en plaque et effectuer les dilutions suivantes sur plaque de microtitration, Ajouter ensuite les différents
- Agiter les plaques puis les couvrir.
- Placer les plaques au réfrigérateur à +4°C pendant une nuit.

Le lendemain:

- Préparer le couple hémolytique (mélange à volumes égaux de la suspension de globules rouges et de solution de sérum hémolytique préparées la veille).
- Laisser le mélange 10 minutes à la température du laboratoire.
- Placer alors les plaques 10 minutes à l'étuve à 37°C.

Le couple hémolytique a été maintenu ainsi 20 minutes à température du laboratoire.

- Ajouter dans toutes les cupules 50µl de couple hémolytique.
- Agiter les plaques puis les couvrir.
- Placer les plaques à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes.

Lecture:

Centrifuger les plaques pendant 10 minutes à 500-1000g (centrifugeuse réfrigérée) ou les laisser 1 heure au réfrigérateur à + 4°C. Le degré d'hémolyse des hématies sensibilisées dans chaque cupule est noté de la façon suivante:

++++ = inhibition complète de l'hémolyse.

+++ = 75% d'inhibition de l'hémolyse (= 25% d'hémolyse)

++ = 50% d'inhibition de l'hémolyse (= 50% d'hémolyse)

+ = 25% d'inhibition de l'hémolyse (= 75% d'hémolyse).

0 = hémolyse complète.

Interprétation:

- Moins de 50% d'inhibition de l'hémolyse à la dilution 1/4 = NEGATIF.
- 50% (+ +) ou plus d'inhibition de l'hémolyse à la dilution 1/4 = POSITIF

Le seuil de positivité est obtenu en suivant le tableau de correspondance entre dilution du sérum et nombre d'unités CCE sensibilisatrices (limite:50 pour 100 d'inhibition):

Dilution du sérum	1/2	1/4	1/6	1/8	1/16	1/32
nombre d'unités CEE Sensibilisatrices	10	20	30	40	80	160

Seuil de positivité

Résultats

I. Résultats de l'étude sérologique de la brucellose dans la région d'étude:

❖ Nombre de prélèvements recus:

Tableau 6 : Nombre d'élevages prélevés par espèces et nombre de prélèvements reçus dans le laboratoire.

Espèces	Nombre d'élevages prélevés	Nombre de prélèvements reçus
BOVINS	1966	12544
CAPRINS	59	1258
CAMELINS	166	1780
OVINS	9	71
TOTAL	2200	15653

Les 15653 prélèvements récoltés sont répartie comme suit : 12544 prélèvements bovins, 1258 prélèvements caprins, 1780 prélèvements camelins et 71 prélèvements ovins; provenant de 2200 élevages, dont 1966 élevages bovins, 59 élevages caprins, 166 élevages camelins et 09 élevages ovins.

❖ Séroprévalence de la brucellose animale:

❖ Séroprévalence de la brucellose bovine:

❖ Séroprévalence individuelle bovine:

WILAYAS	Nombre de prélèvements bovins	Nombre de positifs	Prévalence
LAGHOUAT	2845	24	0.84 %
DJELFA	1523	40	2.63 %
GHARDAIA	5662	77	1.36%
EL BAYADH	2221	27	1.22%
OUARGLA	293	01	0.34%
TOTAL	12544	169	1.35%

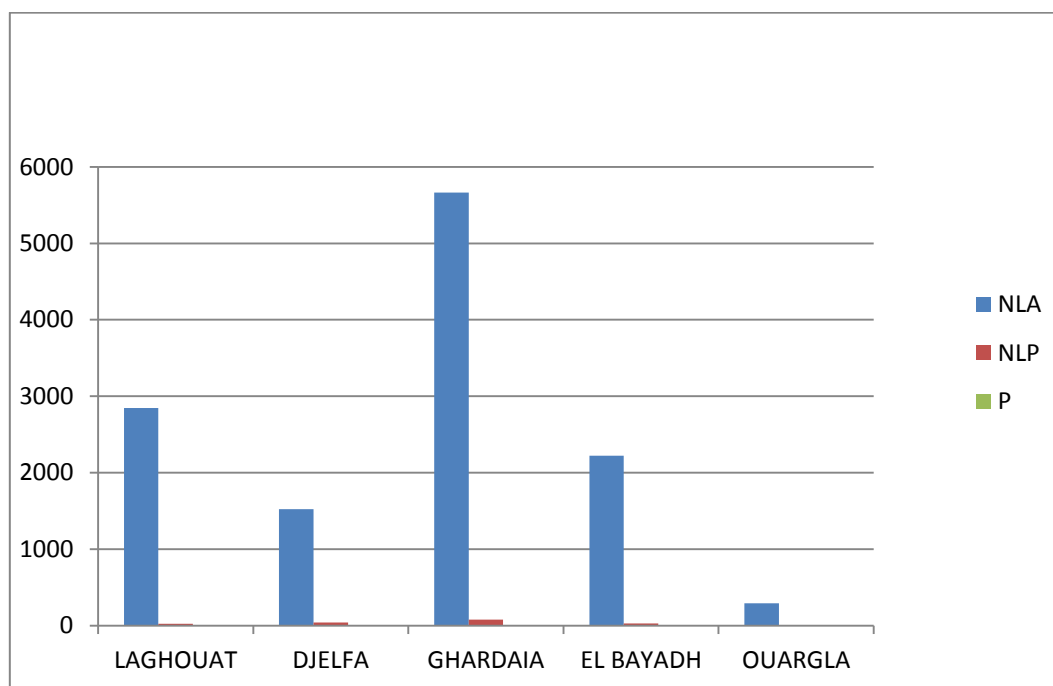
Tableau 7: séroprévalence individuelle de la brucellose bovine dans la région.

Avec 169 bovins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose bovine dans la région pendant la période étudiée est de **1.35%**.

On note un taux maximum dans la wilaya de Djelfa avec **2.63%** suivie d'Ghardaia 1.36%, El-Bayad **1.22%** et Laghouat avec un taux de **0.84%**.

Le taux minimum enregistré est de **0.34%** dans la wilaya de Ouargla avec 01 cas positifs.

Figure 5 : séroprévalence individuelle de la brucellose bovine.



❖ **Séroprévalence du cheptel bovin infecté et distribution géographique des foyers brucelliques:**

Tableau 8 : séroprévalence du cheptel bovin brucellique.

WILAYAS	Nombre de chaptel analysé	Nombre de chapel positif	Prévalence
LAGHOUAT	626	20	3,19%
DJELFA	221	25	11,31%
GHARDAÏA	411	38	9,25%
EL-BAYAD	626	20	3.19,%
OUARGLA	52	01	1,92%
TOTAL	1936	104	5.37%

Avec 104 foyers bovins, la séroprévalence du cheptel infecté pendant la période étudiée est de **5.37%**. On note un taux maximum dans la wilaya de Djelfa qui est de **11.31%** ; suivie de Ghardaia **9.25 %** ; puis de laghouat et el Bayad **3.19%** .

Le taux minimum enregistré dans la région est dans la wilaya d'Ouargla avec **01** foyer bovin et un taux d'infection de **1.92%**.

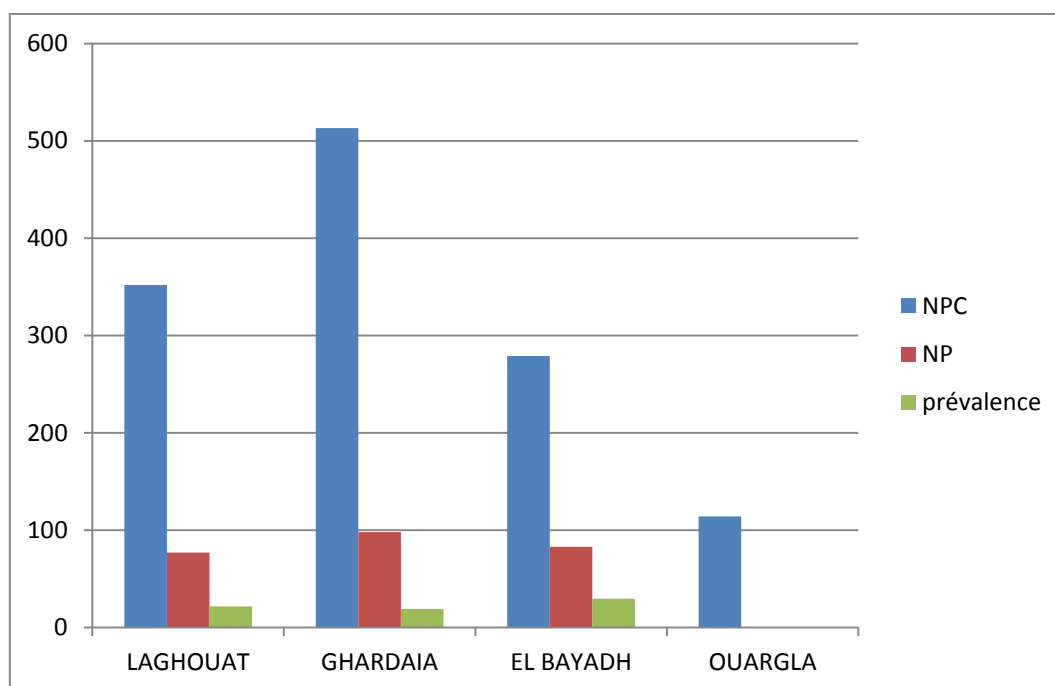
❖ **Séroprévalence de la brucellose caprine :**

❖ **Séroprévalence individuelle caprine:**

Tableau 9 : séroprévalence individuelle de la brucellose caprine dans région.

WILAYAS	Nombre de Prélèvements caprins	Nombre de positifs	Prévalence
LAGHOUAT	352	77	21,88%
GHARDAIA	513	98	19,10%
EL BAYADH	279	83	29,75%
OUARGLA	114	00	0%
TOTAL	1258	258	20.51%

Avec 258 caprins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose caprine dans la région pendant la période étudiée est de **20.51%**. On note un taux maximum dans la wilaya d'El-Bayad avec **29.75%** suivie de Laghouat **21.88%** et Ghardaïa avec un taux de **19.10%**. Le taux minimum enregistré est de **0%** dans la wilaya d'Ouargla .

Figure 6 : séroprévalence individuelle de la brucellose caprine

Séroprévalence du cheptel caprins infecté et distribution géographique des foyers brucelliques:

Tableau 10: séroprévalence du cheptel caprin brucellique.

WILAYAS	Nombre de cheptel analysé	Nombre de cheptel positif	Prévalence
LAGHOUAT	30	13	43,33%
GHARDAIA	33	7	21,21%
EL-BAYAD	16	10	62.5%
OUARGLA	10	0	0%
TOTAL	89	30	33.71%

Avec 30 foyers caprins, la séroprévalence du cheptel infecté pendant la période étudiée est de **33.71%**. On note un taux maximum dans la wilaya de EL Bayad qui est de **62.5%**; suivie de Laghouat **43.33 %** ; et Ghardaïa **21.21%** . Le taux minimum enregistré dans la région est dans la wilaya d'Ouargla et un taux d'infection de **0%**.

❖ Séroprévalence de la brucellose cameline :

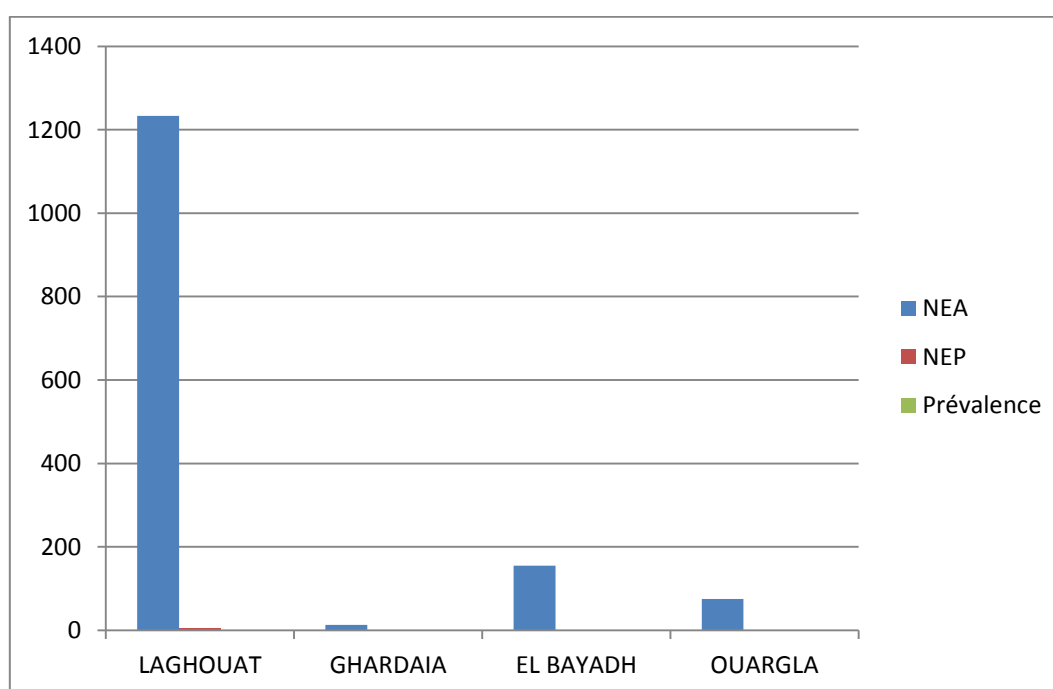
❖ Séroprévalence individuelle cameline:

Tableau 11 : séroprévalence individuelle de la brucellose cameline.

WILAYAS	Nombre de prélèvements	Nombre de positifs	Prévalence
LAGHOUAT	1233	6	0,49%
GHARDAIA	13	0	0%
EL BAYADH	155	0	0%
OUARGLA	75	0	0%
TOTAL	1476	6	0.4%

Avec 6 camelins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose cameline obtenue pendant la période étudiée est de **0.4%**.

On note un taux maximum dans la wilaya de Laghouat avec **0.49%** .

Figure 7 : séroprévalence individuelle de la brucellose cameline dans région

Séroprévalence du cheptel camélins infecté et distribution géographique des foyers brucelliques:

Tableau 12 : séroprévalence du cheptel camélins brucellique dans la région.

WILAYAS	Nombre de cheptel analysé	Nombre de cheptel positif	Prévalence
LAGHOUAT	101	5	4,95%
GHARDAIA	2	0	0%
ELBAYADH	15	0	0%
OUARGLA	29	0	0%
TOTAL	147	5	4.95%

Avec 5 foyers camélins, la séroprévalence du cheptel infecté dans la région pendant la période étudiée est de **4.95%**. On note un taux maximum dans la wilaya de Laghouat qui est de **4.95%**; suivie d'El-Bayad **3.84 %**.

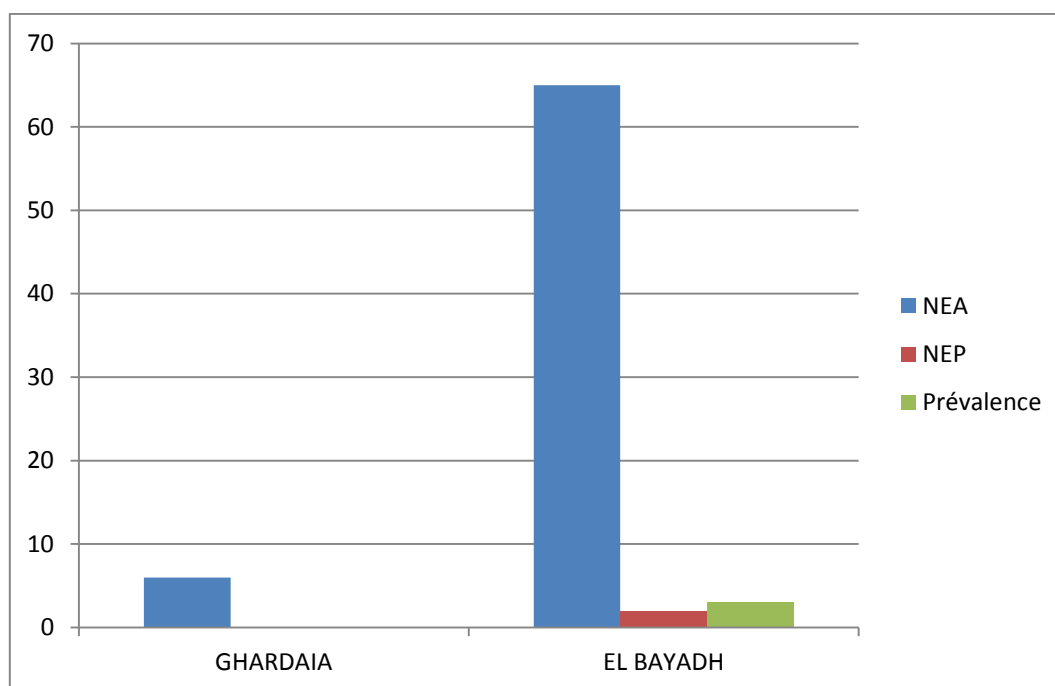
❖ **Séroprévalence de la brucellose ovine :**

❖ **Séroprévalence individuelle ovine:**

Tableau 13 : séroprévalence individuelle de la brucellose ovine.

WILAYAS	Nombre de prélèvements	Nombre de positifs	Prévalence
GHARDAIA	6	0	0%
EL BAYADH	65	2	3,07%
TOTAL	71	2	3.07%

Avec 2 ovins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose ovine pendant la période étudiée est de **3.07 %**. On note un taux maximum dans la wilaya d'El-Bayad avec **3.07%**.

Figure 8 : séroprévalence individuelle de la brucellose ovine dans région.

Séroprévalence du cheptel ovins infecté et distribution géographique des foyers brucelliques:

Tableau 14 : séroprévalence du cheptel ovin brucellique.

WILAYAS	Nombre de cheptel analysé	Nombre de cheptel positif	Prévalence
GHARDAIA	1	0	0%
ELBAYADH	8	2	25%
TOTAL	9	2	22.22%

Avec 02 ovins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose ovine pendant la période étudiée est de **22.22%**. On note un taux maximum dans la wilaya d'El-Bayad avec **25%**.

Variation de la séropositivité de la brucellose selon quelques facteurs de risque :

❖ **La région ou zone d'étude:**

Tableau 15 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon la région.

LA REGION	Nombre de prélèvements	Nombre de positifs	Pourcentage
LAGHOUAT	4430	107	2,44%
DJELFA	1526	40	2,62%
GHARDAIA	6194	175	2,83%
EL BAYADH	2724	113	4,15%
OUARGLA	482	01	0,21%

LA REGION	Nombre de chaptel	Nombre de positifs	Pourcentage
LAGHOUAT	757	38	5,02%
DJELFA	222	25	11,26%
GHARDAIA	447	45	10,07%
EL BAYADH	659	33	5%
OUARGLA	91	1	1,1%

Le pourcentage de la brucellose varie d'une wilaya à l'autre, allant de **11.26 %** dans la wilaya de Djelfa à **1.1%** dans la wilaya d'Ouargla.

❖ **L'espèce:**

Tableaux 16 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon l'espèce.

ESPECE	Nombre de prélèvement	Positifs	Pourcentage
BOVINS	12544	169	1.35%
CAPRINS	1258	258	20,51%
CAMELINS	1476	6	0,4%
OVINS	71	2	3,07%
TOTAL	15349	435	2,83%

ESPECE	Nombre d'élevage	Positifs	Pourcentage
BOVINS	1936	104	5,37%
CAPRINS	89	30	33,71%
CAMELINS	147	5	4,95%
OVINS	9	2	22,24%
TOTAL	2181	141	6,46%

On observe que les caprins avec **20.51%** sont plus sensibles par rapport essentiellement aux bovins et camelins (vue la faiblesse de l'échantillon ovin), il en ressort que cette espèce animale présente plus de susceptibilité.

❖ **Le type d'élevage**

Tableau 17 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon le type d'élevage.

TYPES D'ELEVAGE	Nombre d'élevage	Nombre de foyer	Pourcentage
ELEVAGE MIXTE (contient les différentes espèces)	101	62	61,38% 1
ELEVAGE NON MIXTE (Contient une espèce unique)	2365	120	5,07%

La différence est remarquable, ce qui voudrait dire que l'élevage mixte (**61.38%**) pourrait être un facteur prédisposant de dissémination de la brucellose

❖ **La saison :**

Tableau 18 : Variation de la séropositivité de la brucellose selon la saison.

SAISONS	Nombre de prélèvement	Positifs	Pourcentage
AUTOMNE	5974	88	1,72%
HIVER	3759	56	1,49%
PRINTEMPS	4040	173	4,28%
ETE	1584	104	6,57%

La saison pourrait être un facteur Prédisposant de dissémination de la brucellose. Elle atteint le maximum en été avec **6.57%** et le minimum en hiver avec **1.49%**.

Discussion

1. Séroprévalence de la brucellose animale dans la région d'étude:

La séroprévalence de la brucellose est bien plus élevée chez les caprins que chez les bovins, mais les taux que nous avons retrouvés sont biaisés à cause de l'échantillon qui est faible ou inexistant dans certaines wilayas. Néanmoins, nous constatons que toutes les wilayas étudiées sont affectées par cette maladie.

L'étude est portée sur 15349 échantillons d'espèce différente (Bovins, Caprins, Camelins, Ovins) réparti sur 2181 cheptels venus des cinq wilayas suivantes: **Laghouat, Djelfa, Ghardaïa, El-Bayad, Ouargla**, dont 12544 prélèvements bovins, 1258 prélèvements caprins, 1476 prélèvements camelins et 71 prélèvements ovins; provenant de 2181 élevages, dont 1936 élevages bovins, 89 élevages caprins, 147 élevages camelins et 09 élevages ovins.

L'étude sérologique a révélée que le **cheptel bovin** présente une séroprévalence de la brucellose de **5.37%**. Nous avons noté un taux maximum dans la wilaya de Djelfa qui est de **11.31%** ; suivie de Ghardaïa **9.25 %** ; puis de Laghouat et el Bayadh **3.19 %** et Ouargla avec **1.92%**.

Le taux minimum enregistré dans la région est dans la wilaya d'ouargla qui est de **1.92%**, et une séroprévalence individuelle de la brucellose bovine dans la région pendant la période étudiée est de **1.35%**. On note un taux maximum dans la wilaya de Djelfa avec **2.63%** suivie d'Ghardaïa **1.36%**, El-Bayad **1.28%** et Laghouat avec un taux de **0.84%**. Le taux minimum enregistré est de **0.34%** dans la wilaya de Ouargla avec 1 cas positifs.

La séroprévalence de la brucellose du **cheptel caprin** infecté dans la région pendant la période étudiée est de **33.71%**. On note un taux maximum dans la wilaya de el Bayadh qui est de **62.5%**; suivi de Laghouat 43.33% ; et Ghardaïa **21.21%**. Le taux minimum enregistré dans la région est dans la wilaya d'Ouargla . la séroprévalence individuelle de la brucellose caprine dans la région pendant la période étudiée est de **20.51%**. On note un taux maximum dans la wilaya d'El-Bayad avec 29.75% suivie de Laghouat 21.88% et Ghardaïa avec un taux de 19.10%. Le taux minimum enregistré dans la wilaya d'Ouargla

La séroprévalence de la brucellose au sein du **cheptel camelin** dans la région et pendant la période étudiée est de **4.95%**. On note un taux maximum dans la wilaya de Laghouat qui est de **4.95%**; suivie d'El-Bayad, Ghardaia et Ouargla avec aucun cas enregistré. la séroprévalence individuelle de la brucellose cameline dans la région pendant la période étudiée est de **0.4%**. On note un taux maximum dans la wilaya de Laghouat avec **0.49%** et aucun cas dans les autres wilayas .

La séroprévalence individuelle de la brucellose du cheptel ovin dans la région pendant la période étudiée est de **22.22%**. On note un taux maximum dans la wilaya d'El-Bayad avec **25%** et avec 2 ovins positifs au dépistage, la séroprévalence individuelle de la brucellose ovine dans la région pendant la période étudiée est de 3.07 %. On note un taux maximum dans la wilaya d'El- Bayadh avec **3.07%**.

De l'autre côté de la méditerranée; Au moment où la France a engagé la lutte (1968), près d'un avortement déclaré sur deux, était d'origine brucellique et près de 50% des cheptels bovins français étaient infectés. En 2001, le taux d'avortement brucellique n'était plus que de **0,01%**, et seulement **0,017%** de cheptels infectés. Le taux de prévalence annuelle apparente des animaux infectés, estimé au départ à **25%**, n'était plus en 2000 que de **0,001%**. Aucun cas de brucellose bovine n'a été déclaré depuis 2003. La prévalence cheptel chez les caprins était de **0,11%** en 1999 contre **0,03%** en 2001, et aucun cas n'a été déclaré depuis 2003 [23, 45].

Selon des études faites dans les autres régions du pays, on retrouve que:

Dans la région ouest, BOUDILMI et al [183], rapportent un taux d'infection de 6% dans la population bovine et 2% dans les populations ovine et caprine.

Dans l'est algérien en 1987, les résultats du dépistage sérologique de la brucellose donnent un taux de 1,47% chez les bovins, 0,29% chez les ovins. En 1989, avec un nombre de prélèvements plus élevé chez les bovins de race locale, un taux moyen de 1,92% a été trouvé. Chez les ovins et les caprins aucun cas positif n'a été enregistré. Cela ne permet pas d'affirmer que la brucellose est inexistante chez ces deux espèces [49].

Une enquête nationale menée par les services vétérinaires en 2000, chez les petits ruminants révèle un taux de 9,58% pour les caprins et 3,36% pour les ovins [50]. Ce taux est plus faible que celui retrouvé pour la région centre.

Dans les pays voisins:

En 1992, le pourcentage d'infectés en Tunisie était de 1,5 de 4 et de 18% pour les bovins, ovins et caprins respectivement [45]. En 2004, la Tunisie ne déclare que 2 foyers bovins; chez les petits ruminants, 15 foyers ont été déclarés et confirmés la même année [46].

Au Maroc, une enquête menée en 1996 dans la région orientale a révélé 12,1 % des troupeaux ovins et 2,4% des troupeaux caprins infectés [48; 47; 50].

En 2004, deux foyers bovins (72 cas) ont été déclarés dans la province d'Agadir; et un foyer de petits ruminants (11 cas) dans la province de Khénifra [47].

Ces deux pays maghrébins utilisent la vaccination comme moyen de lutte contre la brucellose [44].

REFERENCES

1. Ganiere, J.P., "La Brucellose Animale", polycopié des écoles nationales vétérinaires françaises, (2004), 45 p.
2. Verger, J.M. & Grayon, M., "Brucellose", In "Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants" (éd. Rodolakis, A. & Nettleton, P.), Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, (1997), 36-55.
3. Ganiere, J.P., "La Brucellose Animale", polycopié des écoles nationales vétérinaires françaises, (2002), 71 p.
4. Crespo León, F., Rodriguez Ferri, E. F., Martinez Valdivia, E., "Brucellose ovine et caprine", 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.
5. Garin-Bastuji, B., "La brucellose ovine et caprine", *Le point vétérinaire*, 235,(2003), 22-26.
6. Godfroid, J., Al-Mariri, A., Walravens, K. & Letesson, J.J., "Brucellose bovine", In "Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chaudes", Tome 2, maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires (éd. 287 Lefèvre, P.C., Blancou, J. & Chermettre, R.), Edition Lavoisier, Paris, London, New York (2003), 867-868.
7. Benhabyles, N., "La brucellose: données fondamentales", R.E.M., vol III, N°2, INSP, (1992).
8. Sfaksi, A., "La brucellose ovine et caprine dans la wilaya de Constantine", mémoire de docteur vétérinaire, Constantine (1979-1980).
9. Sergent, E., "La fièvre méditerranéenne en Algérie: note préliminaire". *Bull. Soc. Path. Exot.*, T.I, N°1, In "recherches expérimentales sur la pathologie algérienne (microbiologie-parasitologie) 1902-1909", (éd Sergent, E.), (1908), 235-265.
10. Sergent, E., Gillot, V. & Lemaire, G., "Études sur la fièvre méditerranéenne chez les chèvres algéroises en 1907". *Annales de l'Institut Pasteur* In "recherches expérimentales sur la pathologie algérienne (microbiologie-parasitologie), 1902- 1909", (éd Sergent, E.), (1908), 235-265.
11. "Directives F.A.O., O.M.S., O.I.E. pour l'établissement d'un programme régional de prophylaxie de la brucellose au Moyen-Orient", édictées et approuvées le 17 février 1993 à Amman, Jordanie et amendées le 22 septembre 1995 à Maisons- Alfort, France, (1995).
12. Benkirane, A., "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.*, 20, 3, (2001), 757-767.

13. Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose, "quatrième rapport", OMS, Genève, (1964), 70 p.
14. Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose, "cinquième rapport", OMS, Genève, (1971), 87p.
15. Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose, "sixième rapport", OMS, Genève, (1986), 145 p.
16. Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. & Verger, J.M., "Techniques for the brucellosis laboratory", INRA, Paris, (1988), 190 p.
17. Alton, G.G.; Jones, L.M. & Pietz, D.E., "La brucellose techniques de laboratoire", deuxième édition, OMS, Genève, (1977), 173 p.
18. Richard, C. ; Kiredjian, M., "Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*)", Institut Pasteur, Paris, (1992), 116-124.
19. Pilet, C. ; Bourdon, J.L ; Toma, B. ; Marchal, N. ; Ballastre, C., "Bactériologie médicale et vétérinaire systématique bactérienne", biologie appliquée collectio publié sous la direction de obré, A. & butiaux, R., Doin éditeurs, Paris, 2eme édition (1986), 203-212.
20. Garin-Bastuji, B., "Brucelloses bovine, ovine et caprine : contrôle et prévention", Le Point Vétérinaire, vol. 25, n° 152, (1993), 107-114.
21. Acha, P.N., Szyfres, B., "Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux", Deuxième édition. O.I.E., Paris, (1989), 14-38.
22. Acha, N. & Szyfres, B., "Zoonoses et maladies transmissibles commune à l'homme et aux animaux", Volume I: bactérioses et mycoses, 3ème édition, O.I.E., Paris. (2005), 26-52.
23. Crespo Léon, F. & Rodriguez Ferri, E. F., "Brucellose porcine", In "Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chaudes", Tome 2, maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires (éd. P.C. Lefèvre., J. Blancou. & R. Chermettre), Edition Lavoisier, Paris, London, New York, (2003), 919-926.
24. Plommet, M. & Plommet, A.M., "Virulence of *Brucella*: bacterial growth and decline in mice", Ann Rech Vét, 19, (1988), 65-67.
25. Bosseray, N., "Infection du placenta de la souris par *Brucella* pathogénie et immunité", *Devlop. biol. Standard.*, Vol. 56, (S. Karger, Basel), (1984), 283-293.
26. Bosseray, N., Plommet, M. & De Rycke, J., "Évolution de l'infection de la souris par *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *Brucella suis* vers l'état chronique et guérison", Ann. Rech. Vét., 13, 2, (1982), 153-161.

27. Boschioli, M.L.; Foulongne, V. & O'Callaghan, D., "Brucellosis: a worldwide zoonosis", *Current Opinion in Microbiology*, Volume 4, Issue 1, (2001), 58-64.
28. Matyas, Z. & Fujikura, T., "Brucellosis as a word problem". *Develop. Biol. Standard.* Vol. 56, (S. Karger, Basel), (1984), 3-20.
29. Bosseray, N., "Mother to young transmission of *Brucella abortus* infection in mouse model", *Ann. Rech. Vét.*, 13, 4, (1982), 341-349.
30. Giannacopoulos, I.; Eliopoulou, M. I.; Ziambaras, T. & Papanastasiou, D. A., "Transplacentally Transmitted Congenital Brucellosis Due to *Brucella abortus*", *Journal of Infection*, Vol 45, Issue 3, (2002), 209-210.
31. Doganay, M. & Aygen, B. & E el, D., "Brucellosis due to blood transfusion", *Journal of Hospital Infection*, Vol 49, Issue 2, (2001), 151-152.
32. Palanduz, A.; Palanduz, Ü., Güler, K. & Güler, N., "Brucellosis in a mother and her young infant: Probable transmission by breast milk", *International Journal of Infectious Diseases*, Vol 4, Issue 1, (2000), 55-56.
33. Poulou, A.; Markou, F.; Xipolitos; I.; Skandalakis, P. N. (2005). A rare case of *Brucella melitensis* infection in an obstetrician during the delivery of a transplacentally infected infant, *Journal of Infection*, Volume 53, Issue 1, (July 2006), e39-e41.
34. Bricker, B. J., "PCR as a diagnostic tool for brucellosis", *Veterinary Microbiology*, Vol 90, Issues 1-4, (2002), 435-446.
35. Nielsen, K., "Diagnosis of brucellosis by serology", *Veterinary Microbiology*, Vol 90, Issues 1-4, (2002), 447-459.
36. Alton, G.G., "Diagnostic sérologique de la brucellose". In "diagnostic bactériologique vétérinaire: méthodes de laboratoire pour le diagnostic de certaines maladies du bétail", (éd. Alton, G.G., Carter, G.R, Kibor, A.C. & Pesti, L.), édition FAO, Rome, Italie, (1992), 1-51. 219. Ouar-Korichi, M.N.; Senouci, H. & Rahal, K., "Diagnostic direct et sérologique de la brucellose", *Direction de la prévention, Commission zoonoses*, (1998).
37. Office Internationale des Épizooties (O.I.E.), Organisation mondiale de la santé animale, <http://www.oie.int>.
38. Wanke, M.M.; Delpino, M.V. & Baldi, P.C., "Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel (clinical trial)", *Theriogenology*, Volume 66, Issues 6-7, (October 2006), 1573-1578.
39. Ouar-Korichi, M.N., "la brucellose: diagnostic et traitement", *La lettre de la prévention n° 18*, décembre 1997. Ministère de la Santé et de la Population. Direction de la prévention.

40. Redjah, A., "La brucellose humaine: aspect thérapeutiques", Séminaire sur les Brucelloses, Ghardaïa 14 et 15 novembre 1990.
41. Minas, A., "Control and eradication of brucellosis in small ruminants", *Small Ruminant Research*, 62, (2006), 101–107.
42. Blasco, J.M., "Epididymite contagieuse du bélier ou infection à *Brucella. ovis*", In "Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chaudes", Tome 2, maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires (éd. P.C. Lefèvre., J. Blancou. & R. Chermettre), Edition Lavoisier, Paris, London. New York, (2003), 905- 917.
43. Ouar-Korichi, M.N.; Senouci, H. & Rahal, K., "Diagnostic direct et sérologique de la brucellose", Direction de la prévention, Commission zoonoses, (1998).
44. Benkirane, A., "La brucellose des petits ruminants au Maghreb et au Moyen Orient: situation actuelle et perspectives", Atelier maladies abortives des petits ruminants, 28 juin 2004-Alger.
45. Refai, M., "Incidence and control of brucellosis in the Near East region". *Veterinary Microbiology*, Vol 90, Issues 1-4, 20, (2002), 81-110.
46. Office Internationale des Épizooties (O.I.E.), Organisation mondiale de la santé animale, Archives de la publication annuelle, "Santé animale mondiale", (2005), http://www.oie.int/fr/info/fr_samarchives.htm
47. Benkirane, A., "Ovine and caprine brucellosis: World distribution and control/eradication strategies in West Asia/North Africa region", *Small Ruminant Research*, 62, (2006), 19–25.
48. Laghzaoui, K., El Idrissi, A.H., El Moudni, Y., Benkirane, A., "contrôle de la brucellose des petits ruminants dans les provinces du Maroc oriental", Communication personnelle.
49. Benaouf, H., Sfaksi, A., Sayah, N., Azzouz, R., Grabssia, M., "Situation et évolution de la brucellose dans l'est algérien de 1976 à 1990, enquête épidémiologique et programme de lutte", Séminaire sur les Brucelloses, Ghardaïa 14 et 15 novembre 1990.
50. Benbernou, A., Ouadahi, F., Kassab, A. & Bouzouidja, F., "enquête brucellose chez les petits ruminants", Atelier maladies abortives des petits ruminants, 28 juin 2004-Alger.

APPENDICES

❖ Matériels de laboratoire pour Épreuve à l'Antigène Tamponné ou Rose Bengale test : (annexe 01)

- Cônes plastique à usage unique.
- Plaque blanche (opaline, plastique, bristol, porcelaine).
- Baguette fine (verre, plastique).
- Agitateur à mouvement basculant (environ 30 balancement par minute).
- Minuteur ou chronomètre.
- Pipettes automatiques (type Eppendoff, Gilson...).

Réactifs utilisés:

- Sérums à examiner.
- Sérum(s) de contrôle témoin(s) positif(s) et négatif(s)
- Antigène coloré au rose Bengale (antigène constitué d'une suspension phénolée à 0,5% de Brucella abortus biovar1, souche 99, inactivée, colorée au rose Bengale et tamponnée à $\text{pH}=3,65 \pm 0,05$).



Figure : Matériel et réactif utilisés pour l'E.A.T.

❖ Matériel de l'Épreuve de fixation du complément: (Méthode en plaques de microtitration (annexe 02))

- Plaques de microtitration à fond en U.
- Compte-gouttes de 25 μ l et 50 μ l.
- Tubes à hémolyse.
- Pipettes graduées à 2 traits (au 1/100) de 0,5 ml, 1ml et 2ml.
- Pipettes graduées à 2 traits (au 1/10) de 5 ml et 10ml.
- Bain-marie à 37°C et 60°C.

- Étuve à 37°C.
- Réfrigérateur à + 4°C.
- Centrifugeuse réfrigérée pour plaques de microtitration.

Réactifs:

- Antigène pour fixation du complément brucellose.
- Sérums à examiner.
- Sérum(s) témoin(s) positif(s) de titre connu.
- Sérum(s) témoin(s) négatif(s).
- Complément lyophilisé
- Hématies de mouton.
- Sérum hémolytique
- Tampon Véronal Calcium Magnésium (T.V.)



Figure : Matériel et réactif utilisés pour

Épreuve:

- Inactiver les sérums par chauffage au bain-marie à 60°C pendant 30 minutes



Figures 9.9: inactivation des sérums à tester.

- Diluer les sérums à examiner et les sérums témoins à 1/4 en tube ou en plaque et effectuer les dilutions suivantes sur plaque de microtitration, Ajouter ensuite les différents réactifs selon le schéma suivant:

	Cupules	Antigène dilué selon titre (1unité) (µl)	Tampon (µl)	Complément (µl)
Témoins sérums	A	-	25	25
	B	25	-	25
	C	25	-	25
	D	25	-	25
	E	25	-	25
	F	25	-	25

- Chaque série d'examens comportera les témoins suivants:

	Cupules	Sérum dilué (µl)	Antigène dilué (1unité) (µl)	Tampon (µl)	Complément (µl)
Témoins Antigène	1	-	25	25	25
	2	-	25	25	25
Témoins Complément	3	-	-	50	25
	4	-	-	50	25
Témoins Couple Hémolytique	5	-	-	75	-
	6	-	-	75	-

- Agiter les plaques puis les couvrir.
- Placer les plaques au réfrigérateur à +4°C pendant une nuit.

Le lendemain:

- Préparer le couple hémolytique (mélange à volumes égaux de la suspension de globules rouges et de solution de sérum hémolytique préparées la veille).
- Laisser le mélange 10 minutes à la température du laboratoire.
- Placer alors les plaques 10 minutes à l'étuve à 37°C.

Le couple hémolytique a été maintenu ainsi 20 minutes à température du laboratoire.

- Ajouter dans toutes les cupules 50µl de couple hémolytique.
- Agiter les plaques puis les couvrir.
- Placer les plaques à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes.

Réactifs:

® **BENGATEST**. SYNBIOTICS EUROPE. 2, rue Alexander Fleming- 69367 Lyon Cedex 07-France.

® **ROSE BENGALE**. INSTITUT POURQUIER. 326, rue de la Galéra Parc Euromédecine 34090 Montpellier-France.

® **ANTIGENE BRUCELLIQUE**. INSTITUT POURQUIER.326, rue de la Galéra Parc Euromédecine 34090 Montpellier- France.

® **ANTIFIX** (*antigène brucellique*). SYNBIOTIC Corporation. Synbiotic Europe. 2, rue Alexander Fleming-69367 LYON Cedex – France.

® **TOMPON VERONAL**. INSTITUT POURQUIER 326, rue de la Galéra Parc Euromédecine 34090 Montpellier- France.

® **TOMPON VERONAL CALCIUM-MAGNESIUM**. Bio Mérieux sa. BIOMERIEUX SA au capital de 77 421 420 F. RCS LYON B 673 620 399. 69280 Marcy-l’Etoile- France.

® **SERUM HEMOLYTIQUE**. Bio Mérieux sa. BIOMERIEUX SA au capital de 77 421 420 F. RCS LYON B 673 620 399. 69280 Marcy-l’Etoile- France.

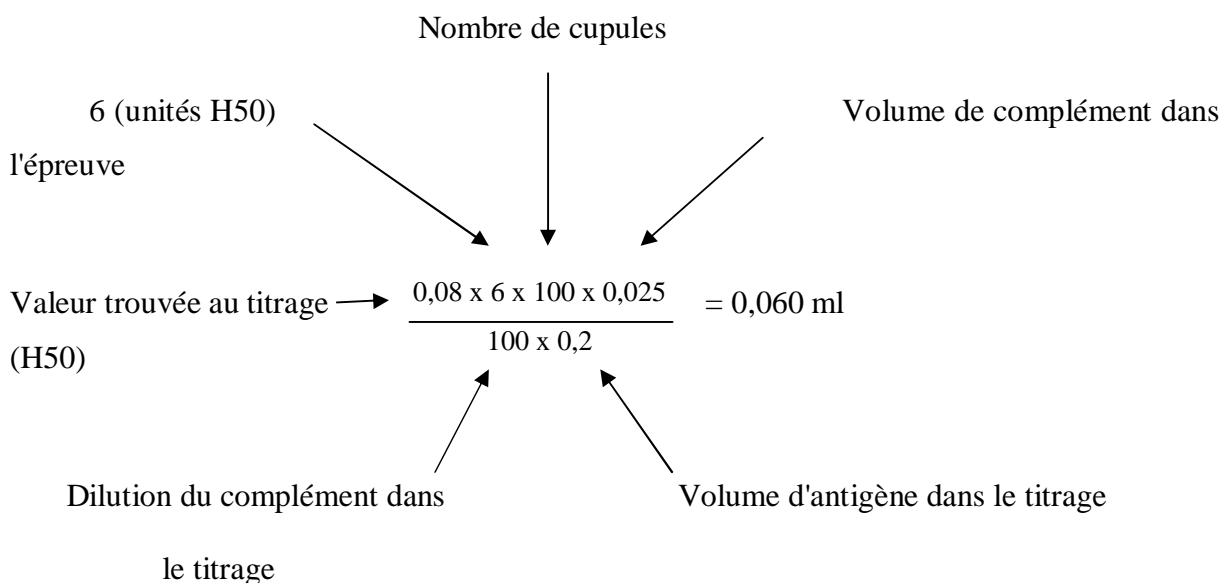
® **COMPLEMENT**. Bio Mérieux sa. BIOMERIEUX SA au capital de 77 421 420 F.RCS LYON B 673 620 399.69280 Marcy-l’Etoile- France.

Calcul de la quantité de complément à préparer pour les examens:(voire appendices)

Exemple:

- Nombre de cupules = 100, chaque cupule reçoit 0,025 ml de complément dilué soit:

0,025 ml x 100 = 2,5 ml (volume total de complément dilué)



L'unité H50 a été trouvée pour le tube n°5 (0,08 ml de complément à 1/100).

L'épreuve utilise 6 unités H50 soit:

- Soit 0,060 ml de complément pur pour 2,44 ml de tampon véronal.

Le schéma de titrage du complément :

														Témoins hémolyse	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	H0	H10
C à 1/100(ml)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,40
Tampon véronal (ml)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0
Antigène dilué selon titre (1unité) (ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,20
Agiter les tubes- les placer au bain-marie à 37°C pendant 30 minutes															
Couple hémolytique (ml)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,40
Agiter les tubes- les placer au bain-marie à 37°C pendant 30 minutes															

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

A.F.S.S.A. : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

B. abortus : Brucella abortus.

B. canis : Brucella canis.

B. cetaceae : Brucella cetaceae

B. maris : Brucella maris.

B. melitensis : Brucella melitensis.

B. neotomea : Brucella neotomea.

B. ovis : Brucella ovis.

B. pinnipediae : Brucella pinnipediae.

B. suis : Brucella suis.

E. A. T : Épreuve à l'antigène tamponné.

E.C.A. : Épreuve cutanée allergique à la brucelline.

E.I.A : Enzyme Immunosorbant assay.

EIA-Interféron γ : Enzyme Immunosorbant assay Interféron γ .

E. L. I. S. A. : Enzyme-Linked Immunosorbant assay.

F. C. : Fixation du complément.

H.S.R. : Hypersensibilité retardée.

I.D.R. : Intra dermo-réaction.

Ig A : Immunoglobuline A.

Ig E : Immunoglobuline E.

Ig G : Immunoglobuline G.

Ig M : Immunoglobuline M.

L. C. V. : Laboratoire Central Vétérinaire.

LPS : Lipopolysaccharide.

LPS S : Lipopolysaccharide smooth.

LPS R : Lipopolysaccharide rough.

L. V. R. I. : Laboratoire Vétérinaire Régional de Laghouat.

PCR : Polymérase Chain Reaction.

R. B. : Rose Bengal.

RSFP : Réactions sérologiques faussement positives.

R. T. : Ring test.

S.A.W. : Séroagglutination Lente de Wright.