



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

**Etude bibliographique sur la Brucellose bovine et son impact sur la
santé publique en Algérie**

Présenté par

Hamdaoui Nadjla et Chabi Amal

Devant le jury :

Président :	KHALED HAMZA	MCA	ISV BLIDA
Examineur :	DAHMANI ALI	MCB	ISV BLIDA
Promoteur :	MERDJA SALAH EDDINE	MCB	ISV BLIDA

Année : 2019/2020

Remerciements

Nous adresse nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire.

A Monsieur S.Merdja

D'avoir accepté d'être notre promoteur, de nous avoir proposé ce sujet qui nous a beaucoup passionnés, pour sa présence et pour son aide et ses corrections tout au long de ce travail.

A Monsieur H.Khaled

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire, pour ses conseils et ses corrections. Hommage respectueux.

A Monsieur A.Dahmani

D'avoir bien voulu participer au jury de ce mémoire, et accepté d'examiner ce travail.

Dédicace

Je dédie cet ouvrage :

A mes chers parents ; mon père Redda et ma mère Naima pour leur soutien, leur patience, leurs sacrifices et leurs encouragements.

A ceux qui font l'impossible pour mon aide au niveau moral avec ses précieux conseils, ainsi leurs encouragements continus : à ma meilleure amie Nawel qui je la souhaite le succès et le bonheur ; a mes sœurs Khansa et Hala, et a mon frère Aimen ; et à ma chère cousine Sameh.

Et enfin a tous mes professeurs de l'institut des sciences vétérinaires Blida.

Par Nadjla.

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail

A mes parents, mon cher mari {Sami} qui est toujours avec moi,

Mon petit prince {wassim}, et tout ma famille sœurs et frères

EN témoignage de leur amour et soutien,

Que dieu les préserve pour moi en bonne santé

Et leur accorde longue vie.

A toutes les belles rencontres tout au long de ma vie studieuse

Ainsi que tous ceux qui mon aidé

A percer mon chemin.

Amal

Résumé

La Brucellose bovine est une zoonose due à des bactéries du genre *Brucella*, une petite coccobacille Gram-. *Brucella* comprend principalement six espèces dont quatre sont infectieuses pour l'homme : *B. abortus* , *B.bovis* , *B.suis* , *B.canis*, *B. melitensis*. Cette dernière est la plus pathogène et la plus répandue.

Les brucelles sont transmises le plus souvent par la consommation des produits laitiers non pasteurisés et plus rarement par la consommation des viandes non cuites, contact des carcasses infectées....etc. Elle est surtout présente dans les régions dépourvues de programme de veille et alerte sanitaire.

Les épreuves sérologiques (EAT, FC) sont les méthodes les plus largement utilisées et constituent des outils efficaces dans le dépistage de la brucellose bovine et permettent la prescription d'une stratégie de lutte contre la brucellose.

La brucellose bovine représente un problème important du point de vue tant économique que de santé publique. Elle occasionne des pertes économiques sévères, résultant à la fois des effets directs sur les animaux et des effets indirects sur les industries animales.

Mots clés : Bovins – Brucellose – Santé publique - Algérie.

Abstract

Bovine brucellosis is a zoonosis caused by bacteria of the genus *Brucella*, a small coccobacillus Gram-negative, *Brucella* mainly comprises six species, which *Brucella* mainly comprises six species, four of which are infectious to humans: (*B.abortus*, *B.bovis*, *B.suis*, *B.canis*, *B.melitensis*). The latter is the most pathogenic and the most widespread.

Brucellosis are most often transmitted by the consumption of unpasteurized dairy products and more rarely by the consumption of uncooked meats, contact of infected carcassesetc .It is especially present in regions without a health watch and alert program.

Serological tests (EAT, FC) are the most widely used methods and are effective tools in the detection of bovine brucellosis and allow the prescription of a strategy for the control of brucellosis.

Bovine brucellosis represents an important problem from both an economic and public health point of view. It causes severe economic losses, resulting from both direct effects on animals and indirect effects on animal industries.

Key Word: Bovine - Brucellosis – Public health – Algeria.

داء البروسيلات البقري هو من الأمراض الحيوانية المنشأ ناتج عن نوع من البروسيلات و هي نوع من كوكوباسيل صغير، البروسيلات

تتكون من ست انواع من بينها اربعة ممرضة للإنسان (B. abortus, B.suis,B.canis,B.bvis, B.Melitensis)

هذه الأخيرة

تقل البروسيلات في اغلب الاحيان من خلال استهلاك المواد الحليبية الغير مبسترة و أحيانا من خلال اللحوم الغير مطهوة جيدا،
الذبائح المعدية... الخ

داء البروسيلات موجود خاصة في البلدان الخالية من برامج توعية و وقاية صحي . الأدلة المصلية (FC, EFC) هي الطرق واسعة

الاستعمال و تمثل الوسائل الأكثر نجاعة في تشخيص المرض و تسمح بوضع إستراتيجية للقضاء على البروسيلات

البروسيلات قري يمثل مشكل كبير من الناحية الاقتصادية و الصحة العمومية و يتسبب في خسائر اقتصادية كبيرة، و هو نتيجة

تأثيرات مباشرة على الحيوانات او غير مباشرة على الصناعات الحيوانية .

البقریات- البروسيلات- الصحة العمومية -

Sommaire

Introduction

1. biologie du genre brucella

1.1. Historique.....	1
1.2. Morphologie et structure.....	2
3.1. Caractères cultureux.....	2
1.3.1 Milieux de cultures.....	2
1.3.2. Condition de croissance	3
1.4. Caractères antigéniques.....	3
1.5 .Caractères biochimiques	4
1.5.1. Caractères en communs.....	4
1.5.2. Caractères particuliers aux différentes espèces	4
1.5.2.1 .Epreuves bactériologiques (sensibilité en colorants bactériostatiques).....	4
1.5.2.2. Aérobiose (exigence en Co2).....	4
1.5.2.3 .Production DH2o.....	4
1.5.3. Métabolisme oxydatif des sucres et des protéines	5
1.5.4. Lysotypie.....	6
1.6. Classification.....	7
1.7 .Réponse immunitaire	7
1.7.1. Immunité a médiation cellulaire.....	8
1.7.2. Immunité a médiation humorale	8
1.7.3. Interféron	9

2. Pouvoir pathogène des brucellas.....	9
2.1. Resistance des brucelles	9
2.2. La physiopathologie	10
2.2.1. Condition de l'infection	10
2.2.1.2. Facteurs qualitatifs.....	10
2.2.1.3. Facteurs tenant à l'hôte	11
2.3. Etapes de l'infection.....	11
2.3.1. Période primaire Brucellose aigu	11
2.3.1.1. Pénétration et multiplication locorégionale	11
2.3.1.2 .Phase de dissémination	11
2.3.2.1. Guérison	12
2.3.2.2. Persistance des brucellas	12
2.4 .Réceptivité et sensibilité des différentes espèces animales	13
2.4.1. Espèces ovine et caprine.....	13
2.4.1.1. Ovins.....	14
2.4.1.2. Caprins.....	15
2.4.3. Espèces porcine	16
2.4.4. Les animaux domestiques	17
2.4.4.1. Les équidés	17
2.4.4.2. Les chameaux et les dromadaires	17
2.4.4.3 .Les carnivores	18
2.4.5. Les animaux sauvages	18
2.4.6. Chez l'homme.....	19
3. Différentes méthodes utilisés dans le diagnostic de la brucellose	20
3.1 .Diagnostic bactériologique	21
3.2 .Diagnostic sérologique	22

3.2.1. Epreuve à l antigène tamponné (E.A.T).....	23
3.2.1.1. Principe.....	24
3.2.1.2. Matériel.....	24
3.2.1.3 .Mode Opérateur	24
3.2.1.4. Interprétation	25
3.2.2. Diagnostic de Wright.....	25
3.2.2.1. Principe	26
3.2.2.2. Matériel	26
3.2.2.3. Mode opératoire	26
3.2.2.4. Interprétation.....	28
3.2.3. Réaction de fixation du complément (R.F.C).....	28
3.2.3.1. Principe	28
3.2.3.2 .Matériel.....	29
3.2.3.3. Mode opératoire	30
3.3. Diagnostic allergique ou l intradermoréaction a la mélanine.....	30
3.3. Principe	30
3.3.2. Matériels	31
3.3.3. Méthodologie de l intradermoréaction a la mélanine et l interprétation des résultats.....	31
3.3.4. Interprétation.....	31
4. prophylaxie	32
4.1. Prophylaxie sanitaire	33
4.2 .Prophylaxie médicale	34
4.2.2 .Les vaccins vivants atténués	34
4.2.2. Les vaccins inactivés ou tués	35

5. Incidence	36
5.1. Incidence sur l'économie	36
5.2. Incidence sur la santé publique	37
6. Traitement	37

Liste des figures

Figure01 : Brucella .Sp (illustration 3D).....	2
Figure02 : Multiplication de <i>B.melitensis</i> dans les macrophages	8
Figure03 : Cinétiques des anticorps dans le sang.....	9
Figure04 : Les étapes de l'infection brucellique.....	13

Liste des tableaux

Tableau01 : Caractères différentiels des biotypes des espèces de brucella.....	4
Tableau02 : Action des bactériophages sur les souches des brucellas (Lysotypie)...	6
Tableau03 : Utilité des méthodes du diagnostiques en fonctions du stade de la maladie	21
Tableau04 : Méthodes bactériologiques sur les souches des brucellas	24
Tableau 05 : les différentes étapes de la dilution	27
Tableau 06 : Ajout de 0,50ml d'antigène prêt à l'emploi dans n'importe quel tube...	27
Tableau 07 : Préparation des témoins négatifs.....	27
Tableau 08 : Utilité des méthodes de diagnostiques en fonction du stade	31

Liste des abréviations

Ag : Antigène.

BCE : Epididymite Contagieuse du Bélier.

DCE : Dose Courante épreuve.

EFSA : European Food Safety Authority.

EAT : Epreuve a l Antigène Tamponné.

E.I.S.A.b. S : European Food Safety Authority

F A O : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.

H.S.R : Hyper Sensibilité Retardée

IDR : Intradermoréaction a la mélanine.

IFI : Immunofluorescence Indirect.

RFC : Réaction de Fixation du Complément.

L.P.S: Lypopolysacharide.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PH: Potential Hydrogen.

SDA: Serum Dextrose Agar.

SFC: Syndrome de Fatigue Chronique.

V.C.M: (Veronel, Calcium, Magnésium)

Introduction

La brucellose bovine est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable, due à l'action de bactéries du genre *Brucella* et commune à l'homme et de nombreuses espèces animales, particulièrement les ruminants.

La brucellose est certainement une des plus importantes zoonoses majeures. Elle est encore la cause de lourdes pertes économiques importantes et de préoccupation en matière de santé publique dans le monde entier.

L'éradication de la brucellose animale exige l'application conjointe des deux grandes méthodes de lutte contre les maladies infectieuses : le dépistage de la brucellose d'une part : il repose sur le diagnostic sérologique et le diagnostic allergique et les mesures sanitaires d'autre part : elles visent l'hygiène, l'isolement, l'abattage des animaux infectés et le contrôle de la commercialisation des animaux.

Ce travail débute par la biologie du genre *Brucella* et se poursuit par son pouvoir pathogène puis des rappels sur les manifestations cliniques de la Brucellose et ensuite nous nous attacherons à préciser les différentes méthodes utilisées dans le diagnostic de la brucellose. Nous concluons par la prophylaxie et le traitement.

1. Biologie du genre *Brucella* :

-1-1-Historique :

La Brucellose (aussi appelée la fièvre de malte ou fièvre ondulante) est une zoonose due à des bactéries du genre *Brucella*. Touche essentiellement le bétail domestique, c'est une anthroponose « maladie transmise par les animaux ».

C'est au 19^{ème} siècle, quand David Bruce a identifié un germe cocciforme minuscule à partir de la pulpe de rate de plusieurs civils et soldats décédés. Bruce nomme la bactérie *Micrococcus melitensis*.

La fièvre de malte largement répandue dans tout le domaine animal, préférentiellement les bovins, les ovins, les caprins mais en fait qui peut infecter beaucoup plus variétés des animaux tels les oiseaux, les bergers, les petits animaux même les dauphins sont parfois infectés par cette bactérie, des signes permettent de détecter la contamination chez ses animaux, l'infection se traduit essentiellement par des infections génitales qui provoquent aux premiers des avortements épidémiques, et donc des avortements par des nombres importants, alors quand ses animaux éliminent les bactéries dans les produits laitiers ce qui est très important pour l'homme, par exemple le fait de traire les vaches atteintes sans gants pouvaient entraîner la contamination de l'homme.

La brucellose humaine est liée à celle du bétail domestique et aux produits laitiers crus provenant d'animaux infectés. Elle reste une maladie d'actualité par sa fréquence et ses conséquences socio-économiques dans les pays en développement, et la découverte de nouvelles *Brucella* chez d'autres espèces animales, domestiques ou sauvages.

Cette bactérie est ainsi dénommée *B. abortus bovis*, laquelle est responsable de la brucellose bovine et d'une forme de brucellose humaine appelée « fièvre ondulante de Bang »

La relation entre *Micrococcus melitensis* et *Bacillus abortus* n'a été établie qu'en 1917 par Alice Catherine Evans, bactériologiste américaine, qui proposa la création d'un genre, *Brucella* avec les espèces suivantes : *B. melitensis*, *B. abortus* et *B. suis*.

(ACHA J.N., SZYFRES B ; 1980)

1.2. Morphologie et Structure :

Brucellose est due à des coccobacilles à Gram négatif intracellulaire facultatif, immobile, et non encapsulée.

Mesurant de 0,5 à 0,7 μ m de diamètre et 0,5 à 1,5 μ m de longueur, avec des cotés rectilignes ou légèrement convexes et des extrémités arrondies. Les cellules ne forment ni flagelle conventionnel, ni capsule, ni spore.

L'organisme est aérobie stricte, avec des besoins nutritionnels complexes, nécessitent une atmosphère enrichie en CO₂. (BENET LI., SANAA M., DUFOUR B., TOMA B 1994)



Figure1 : Brucella Sp. (illustration3D).

3. 1.caractères cultureux :

1.3.1 Milieux de cultures :

Parlant des milieux de bases, l'isolement direct et la culture des *Brucella* sont habituellement réalisés sur milieu solide. C'est une méthode de choix car elle permet le développement de colonies pouvant être isolées et aisément reconnues. Cependant, les milieux liquides peuvent être recommandés pour les échantillons volumineux et pour l'enrichissement.

Une grande variété de milieux de base commerciaux déshydratés est disponible, tels que le milieu de base pour *Brucella* (*Brucella* medium base), la gélose tryptose (ou trypticase) soja.1

D'autres milieux sont satisfaisants tels que la gélose sérum-dextrose (sérum-dextrose agar [SDA]) ou glycérol dextrose. Le SDA est généralement privilégié pour l'observation de la morphologie des colonies. Un milieu non sélectif et biphasique, le milieu de castaneda, est recommandé pour l'isolement des brucellas à partir du sang et d'autres fluides biologiques comme le lait, pour lesquels un enrichissement est souhaitable. Ce milieu est utilisé du fait de la tendance des *Brucella* à dissocier en bouillon et la présence de bactéries rugueuses peut nuire au bio typage de la souche isolée. (www.123bio.net 2015)

Maintenant concernant les milieux sélectifs l'isolement se fait à partir de prélèvements contaminés par d'autres bactéries ou par des champignons nécessite l'emploi de milieux sélectifs, préparés à partir des milieux de bases mentionnées ci-dessus aux quels on ajoute des antibiotiques et des antifongiques. Un des plus utilisées est celui de kuzdas et mors, comprenant du cycloheximide, de la bacitracine et de polymexine-B, parmi les milieux récemment proposés, il faut signaler celui de Farell, qui ajoute aux substance du milieu précédent de la vancomycine, de l'acide nalidixique et de la nystatine. (www.bio-rad.com 2017)

1.3.2. Conditions de croissance :

La bactérie responsable de la maladie à des besoins nutritionnels complexes, certaines souches nécessitent des temps d'incubation de 3j à plus de 2 semaines. Sa croissance nécessite l'utilisation de milieux gélosés riches au sang frais, au sang cuit avec facteur de croissance. Certaine espèces nécessitent une atmosphère riche en CO₂ de (5 à 10 %) pour sa croissance. *Brucella* est sensible à la chaleur dont l'optimum doit être à 34°C, elle préfère la neutralité avec un Ph compris entre (6.6- 7.4) et à l'action des rayons ultraviolets mais très résistante dans le milieu extérieur. (DUBRAY G, 1973)

1.4. Caractères antigéniques :

Il est possible de discerner à partir des divers aspects macroscopiques des colonies une variété de propriétés différentes correspondant à des variations antigéniques au niveau de la surface.

L'étude de WILSON et MILES a montré les variations entre les souches de *Brucella* dans la distribution quantitative des deux antigènes de surface A et M dans le groupe de phase lisse. Ils donnent naissance à des agglutinines. Ces deux antigènes sont quatre. L'origine chimique de ces substances antigéniques est liée au complexe lipopolysaccharide-protéine de la partie externe de la paroi, qui présente des communautés antigéniques avec d'autres bactéries, notamment *Yersinia enterocolitica* 09, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, certaines *Salmonella*, certaines *Leptospira* et plus rarement *Escherichia coli* O: 157.

Brucella à la structure générale d'un bacille à Gram négatif. Sur son L.P.S pariétal, deux types d'antigènes sont présents en quantité variable selon l'espèce : Ag A (*B. abortus*) et Ag M (*B. melitensis*).

Il y a une parenté antigénique avec d'autres bactéries (*Yersinia enterocolitica* 09, *Francisella tularensis* et certaines *Salmonella*...)

(EBADI A., ZOWGHI E 1983)

1.5. Caractères biochimiques :

1.5.1. Caractères en communs :

Brucella ont certaines caractéristiques en commun (positives ou négatives) qui permettent de reconnaître leur groupe. Ils sont purement aérobies, n'acidifient pas clairement les conditions sucrées, ne produisent pas d'indole dans l'eau peptone; ne produisent pas d'hémolyse dans la gélose au sang, ne réagissent pas négativement au rouge de méthyle, n'utilisent pas de citrate et ne produisent pas d'acétyl-méthylcarbinol.

Toutes les espèces de *Brucella* possèdent une catalase et une oxydase sauf pour *B. neotomae* et *B. suis*, l'urée est hydrolysée, sauf par *B. ovis* et les nitrates sont réduits, sauf par *B. ovis*. (ELOIT M, 1983)

1.5.2. Caractères particuliers aux différentes espèces :

Une collection d'expériences effectue la différenciation des espèces du genre *Brucella*. Les travaux de HUDDLESON permettent une série de tests relativement simples pour distinguer *B. melitensis*, *B. abortus* et *Brucella suis*. Ceux-ci impliquent l'action bactériostatique de la thionine, la production de H₂S et le besoin de dioxyde de carbone. (ELBERG S, 1996)

1.5.2.1. Epreuves bactériostatiques (Sensibilité aux colorants bactériostatiques):

Les brucellas se distinguent par leur sensibilité à certains colorants appliqués sur les milieux de culture à faibles doses: soit de la thionine, soit de la fuchsine simple est appliquée sur la gélose hépatique. Selon les organismes, l'activité bactériostatique de deux couleurs (fuchsine et thionine) est différente. On considère que *B. Abortus* est inhibé par la thionine, et non par la fuchsine, et *Brucella suis* et *B. neotomae* soutiennent la thionine, mais pas la fuchsine. Par comparaison, aucune de ces couleurs n'inhibe *B. melitensis*, *B. ovis* et *B. canis*.

(FENSTERBANK R, 1985)

1.5.2.2. Aérobisme (exigence en CO₂) :

Toutes les espèces du genre *Brucella* se développent au contact de l'air frais, provenant du corps humain ou animal. Pour leur isolement, seuls *B.ovis* et certains biotypes de *B.abortus* ont besoin d'une atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO₂. **(FERRON A, 1982)**

1.5.2.3. Production d'H₂S :

En fonction de la déformation elle est constante, mais variable en valeur et en longueur. Les trois épreuves précédentes sont résumées dans le (Tableau 01).

Tableau 01 : Caractères différentiels des biotypes des espèces de *Brucella*.

Dilution des colorants : a : 1/25 000, b : 1/50 000, c : 1/100 000

Espèces	Biotypes	Besoin en CO ₂	Production de H ₂ S	Uréase	Croissance en présence					Agglutination avec les sérums		
					thionine		Fuchsine			A	M	R
					A	b	C	B	C			
<i>B. melitensis</i>	1	-	-	30 mn- 3 h	-	+	+	+	+	-	+	-
	2	-	-	30 mn- 3 h	-	+	+	+	+	+	-	-
	3	-	-	30 mn-3 h	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>B. abortus</i>	1	±	+	1 – 2 h	-	-	-	+	+	+	-	-
	2	+	+	1 -2 h	-	-	-	-	-	+	-	-
	3	±	+	1 -2 h	+	+	+	+	+	+	-	-
	4	±	+	1 -2 h	-	-	-	+	+	-	+	-
	5	-	-	1 -2 h	-	+	+	+	+	-	+	-
	6	-	±	1 -2 h	-	+	+	+	+	+	-	-
	7	-	±	1 -2 h	-	+	+	+	+	+	+	-
	8	+	-	1 -2 h	-	+	+	+	+	-	+	-
	9	±	+	1 -2 h	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>B. suis</i>	1	-	+	5- 30 mn	+	+	+	-	-	+	-	-
	2	-	-	5- 30 mn	-	+	+	-	-	+	-	-
	3	-	-	5- 30 mn	+	+	+	+	+	+	-	-
	4	-	-	5- 30 mn	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>B. neotomae</i>		-	+	5- 30 mn	-	-	+		-	+	-	-
<i>B. ovis</i>		+	-	Négatif	+	+	+	+	+	-	-	+
<i>B. canis</i>		-	-	5- 30 mn	+	+	+	+	±	-	-	+

1.5.3. Métabolisme oxydatif des sucres et des protéines :

MEYER et CAMERON (1961) ont montré que chaque espèce du genre *Brucella* avait un type d'utilisation d'oxygène caractéristique et distinct sur des substrats, des acides aminés et des glucides sélectionnés. Ceux-ci ont été divisés en trois groupes: les acides aminés du groupe I, les acides du cycle de l'urée dans le groupe II et les substrats glucidiques du groupe III.

De plus, afin de déterminer la forme du métabolisme oxydatif, il est important de préparer une suspension calibrée des cellules de culture au repos et d'évaluer la capacité des microorganismes à utiliser de l'oxygène en présence de chaque substrat avec l'appareil de Warburg (méthode manométrique) (FLANDROIS J.P, 1997)

1.5.4. Lysotypie :

Elle est réalisée par de nombreux bactériophages qui ont le même spectre et ne sont impliqués que dans un processus fluide sur la *Brucella*. Le brucellophage appelé "Tbilissi" est le plus utilisé. Il a été nommé le phage de référence. Le test phagique est réalisé uniquement sur des milieux solides en utilisant deux concentrations différentes de phage; le test de dilution actuel (DCE) et une suspension plus concentrée (10 000x DCE); On observe qu'aux deux dilutions toutes les souches de *B.abortus* sont entièrement lysées par le phage. Alors que les souches de *Brucella suis* présentent une lyse partielle avec une dilution de 10 000x DCE.

. Par contre, les souches de *B.melitensis* ne sont lysées par aucune des dilutions des phages (Tableau 02). (NICOLLE, P.; MOLLARET, H.; BARAULT, J. 1972)

Tableau 02 : Action des bactériophages sur les souches des *Brucella* (lysotypie).

	DCE	10.000 DCE
<i>B. abortus</i>	+	+
<i>B. melitensis</i>	-	-
<i>B. suis</i>	-	+

Il y avait un besoin d'un nombre encore plus grand de particules de phage pour provoquer une certaine inhibition de la croissance *B. Lávns* of *B. melitensis*. Les cultures et les espèces de *Brucella* crues, telles que *B. Ovis* et *B. Canis*, n'avaient pas été affectées par les concentrations de phages les plus élevées. Les cultures *B. Abortus* de morphologie coloniale

intermédiaire ont adsorbé le phage, mais seules quelques cellules infectées ont libéré le phage mature (après une période de latence retardée).

D'autres bactériophages permettent le typage des différentes souches du genre *Brucella*: phages du groupe Weybridge, phages du groupe Florence, Phages actifs sur *B. Melitensis*, Phages actifs sur *Brucella rugueux*. **(NICOLLE, P.; MOLLARET, H.; BARAULT, J. 1972)**

1.6. Classification :

La classification des espèces du genre *Brucella* et de leurs biotypes est basée sur diverses découvertes:

- Virulence pour l'homme, on voit que le plus pathogène est *B.melitensis*, puis *B. abortus* et enfin *B.suis*.
- Constitutions antigéniques: toutes les souches de *Brucella* ont les mêmes facteurs antigéniques: facteur M (*melitensis*), facteur A (*abortus*). Seules les proportions respectives de ces facteurs et leur position dans les cellules varient dans les organismes.
- Epidémiologique: qui représente l'animal hôte principal de l'espèce.
- Le test d'agglutination sérique monospécifique: consiste en l'agglutination de type sérologique à l'aide de trois sérums mono spécifiques: sérum anti A, sérum anti M et sérum anti R. Les deux premiers sérums (A, M) permettent uniquement de distinguer *Brucella melitensis* des autres pincettes (Tableau 01).
- Lysotypie: Le brucellophage "Tbilissi" est le plus utilisé. Il a été nommé le phage de référence. **(I Lopez-Goni)**

1.7. Réponse immunitaire :

Les brucelles sont des parasites intracellulaires facultatifs du système réticulohistocytaire. Ils sont caractérisés par la multiplication des phagocytes en inhibant la fusion entre le lysosome et le phagosome (Figure 2). Ils provoquent des réactions défensives dans le corps qui sont médiées par les cellules et le rire. Ces réactions immunitaires sont typiques de toutes les formes du genre *Brucella*. **(Wikipédia 2020)**

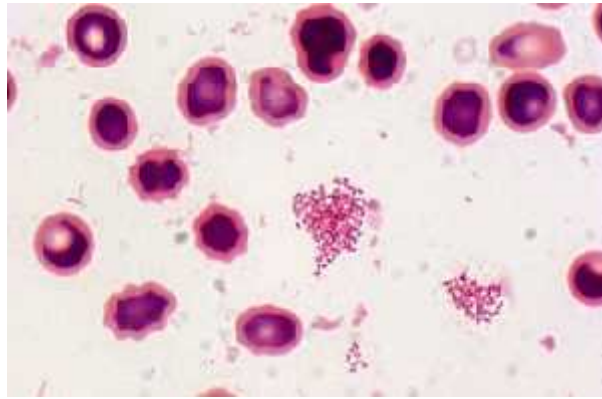


Figure 2 : Multiplication de *B. melitensis* dans un macrophage.

Un antigène LPS-S, également appelé immunogène, provoque la réponse immunitaire de l'hôte à Brucella. Celui-ci est capable d'induire la synthèse de molécules de reconnaissance, à savoir les anticorps lymphocytaires B (réponse immunitaire humorale), et les récepteurs lymphocytaires T (réponse immunitaire cellulaire) qui peuvent se combiner in vivo ou in vitro avec une partie de la molécule antigénique (épitope ou déterminant antigénique composé de quelques acides aminés protéiques et de quelques sucres polysaccharidiques). **(eurofins-biomni, 2019)**

Ces deux formes de réponse immunitaire peuvent théoriquement être utilisées pour tester des animaux qui étaient en contact avec Brucella. La réaction de l'hôte à l'infection est généralement exprimée dans le cycle post-pubertaire et peut varier en fonction de la virulence de la souche, de la dose d'infection, du chemin d'entrée et du niveau physiologique. **(eurofins-biomni, 2019)**

1.7.1. Immunité à médiation cellulaire :

Brucella n'est pas très sensible à l'action des anticorps. D'autre part, ces bactéries sont sensibles à l'influence des lymphocytes T fournissant une immunité à médiation cellulaire. Celles-ci prolifèrent et sécrètent des lymphokines (interleukines) après avoir reconnu les bactéries phagocytées par les macrophages et les leucocytes, qui attirent et activent les macrophages en augmentant leur force bactéricide.

De plus, SPLITTER et COLL ont démontré dans une étude que la réponse à médiation cellulaire dirigée contre Brucella repose principalement sur les cellules T CD8 +. On peut déduire que l'immunité Médie par les cellules résulte souvent d'une infection naturelle (bactéries intracellulaires). Le test de réaction intradermique avec de la mélitine (brucelline) le démontre. **(Wagwalking, 2004)**

1.7.2. Immunité à médiation humorale :

En comparaison avec d'autres bactéries intracellulaires, *Brucella* fournit une immunité à médiation humorale en plus de l'immunité cellulaire, qui joue un rôle important dans la prévention des récurrences.

La production d'anticorps contre la brucellose a fait l'objet de nombreuses études qui ont exploré les différents groupes d'anticorps qui se produisent au cours du développement de la maladie.

Les immunoglobulines M (IgM) apparaissent d'abord, puis les remplacent progressivement par les immunoglobulines G (IgG1) qui prédominent dans les phases ultérieures de l'infection aiguë, aiguë et chronique (Figure 3).

Par ailleurs, CANNAT et COLL ont montré que vis-à-vis de l'immunité cellulaire, les anticorps ont une réelle fonction protectrice, bien que secondaire. (ELOIT M, 1983)

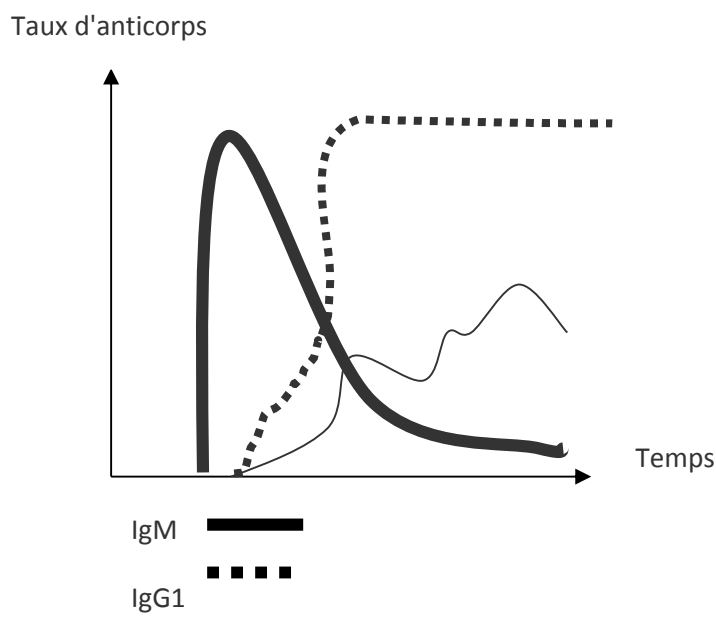


Figure 3: Cinétique des anticorps dans le sang. (ELOIT M, 1983)

1.7.3. Interféron :

Pendant longtemps, on a pensé que la sortie d'interféron était réservée uniquement aux virus.

En 1972, GORHE et COLL ont montré que les bactéries à Gram négatif et l'endotoxine bactérienne (LPS) peuvent fonctionner comme un virus chez les animaux et non sur des cultures cellulaires.

BOUSSQUET, en 1973. C, a montré une production d'interféron chez les souris infectées

par le sérum de *B. melitensis*. (ELOIT M, 1983)

2. Pouvoir pathogène des Brucella :

Comme nous l'avons dit plus tôt dans l'histoire de la brucellose et la découverte de la maladie, il est réputé que le genre *Brucella* comprend sept espèces: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis* et *B. cetaceae* ou *B. pinnipediae*. Chacune de ces espèces a une affinité particulière pour une ou plusieurs espèces d'animaux domestiques ou sauvages, ainsi que pour les humains. Cela explique pourquoi la maladie se propage dans le monde entier. (DUFÉY J, 1992)

2.1. Résistance des brucelles :

Les brucelles sont généralement plus résistantes à l'environnement extérieur que la plupart des autres bactéries pathogènes non sporulantes. Ces bactéries résistent souvent jusqu'à plusieurs mois dans l'eau, dans les avorteurs et les enveloppes fœtales dans les excréments de bovins, dans la fourrure, le foin, le lait et ces dérivés, dans l'équipement et les vêtements, à la dessiccation (papier riche en protéines, poussière, sol) et survivent à basses températures et particulièrement gelées. (Anses, 2014)

De plus, les pinces sont rapidement tuées par la chaleur (pendant quelques minutes, 62 ° C). La survie dans les fromages fermentés semble très courte mais leur survie peut être beaucoup plus longue dans les fromages frais. La fermentation semble toxique, donc les laits fermentés et les yaourts sont des habitats défavorables. La durée de vie des pinces à viande est essentiellement extrêmement limitée. (Anses)

2.2. La physio pathogénie :

2.2.1. Conditions de l'infection :

2.2.1.1. Facteurs qualitatifs :

La pathogénicité de *Brucellas* varie selon les espèces (*B. melitensis* est classiquement plus virulente) et les souches. La fonction de pathogénicité reste largement inexpliquée. (AHL R 2001)

2.2.1.2. Facteurs quantitatifs:

La pathogénicité a également à voir avec la taille de l'inoculum ou le nombre de bactéries introduites dans le corps.

Selon MAC EWEN, l'instillation conjonctivale 105 *B. abortus* chez les génisses aboutit à un taux d'infection de 50 pour cent; il est supérieur à 90% pour 15x 105 Brucella. **(Monvet, 2018)**

2.2.1.3. Facteurs tenant à l'hôte :

La vulnérabilité des animaux à Brucella est affectée par l'âge, le sexe et le niveau physiologique de l'animal.

❖ Age:

*** Période fœtale :**

L'infection fœtale in utero entraîne généralement une septicémie mortelle et un avortement. Dans certains cas, cependant, le fœtus est viable à une fin de gestation et avec une faible contamination. L'infection que le fœtus a contractée in utero persiste alors latente chez le jeune jusqu'à l'âge adulte, l'animal restant séronégatif et cliniquement stable jusqu'à sa première naissance. **(ALONSO J.M., BERCOVIER H, 1975)**

*** Période pré-pubère :**

Si le jeune animal pré pubère est bien sensible (avant 6 mois), sa sensibilité à l'infection est nulle. Par conséquent, la maladie n'est jamais exprimée pendant cette période. Sinon, l'animal se rétablira très rapidement. **(Wikipédia, 2020)**

*** Période post pubère :**

Après le développement génital complet, la période post-pubertaire est la période de sensibilité la plus élevée. **(Wikipédia, 2020)**

Gestation:

Avec la phase de gestation, la sensibilité augmente. De plus, plus le nombre de femelles avortées est élevé, plus le risque d'infection par d'autres femelles est élevé. Peu de femelles infectées se rétablissent complètement et doivent être traitées comme des porteuses permanentes. **(Wikipédia, 2020)**

❖ Individu :

La pathogénicité de Brucella est également une caractéristique de l'organisme. C'est pourquoi tous les intermédiaires peuvent être trouvés sur le terrain entre l'infection par avortement aiguë et traditionnelle et la résistance totale à l'infection. **(Monvet, 2018)**

2.3. Etapes de l'infection :

2.3.1. Période primaire: brucellose aigu :

2.3.1.1. Pénétration et multiplication locorégionale :

Brucella pénètre dans le corps par la porte d'entrée: muqueuses des yeux, nasopharyngée, digestive, génitale, peau érodée. La pénétration chez les animaux de ferme semble cependant se faire principalement par les voies respiratoires supérieures. Les bactéries migrent ensuite lymphatiquement, où elles se propagent, vers le premier relais ganglionnaire. Ce ganglion est le foyer primaire, périphérique ou profond (ganglions de la tête, ganglions mésentériques, etc.). La multiplication se produit à l'extérieur des cellules.

Le cycle d'incubation de la maladie correspond au processus locorégional. Peu caractéristique, il peut passer inaperçu lors d'une contamination par des Brucella faiblement pathogènes, voire être confiné à ce niveau. Il dure entre 5 à 15 jours et ne dure pas plus de 3 semaines. **(Cutler SJ, 2005)**

2.3.1.2. Phase de dissémination :

Brucella diffuse par voie lymphatique ou hémotogène à partir du ganglion colonisé. L'hémoculture peut être positive pendant cette période de bactériémie. Même cette phase peut passer inaperçue cliniquement.

En même temps, le ganglion colonisé rend Brucella phagocytée par les neutrophiles et les macrophages. Ils sont détruits dans certaines cellules et libèrent leurs antigènes et leur endotoxine. Ils se multiplient dans d'autres qui provoquent des lésions. **(Cutler SJ, 2005)**

2.3.1.3. Phase de localisation :

Enfin, à certains endroits choisis, Brucella prend racine et se multiplie:

- * tissus riches en cellules réticulo-histiocytaires tels que des groupes du foie, de la rate et des ganglions (ganglions lymphatiques mammaires et iliaques);
- * Organes génitaux: utérus gravide, fœtus et attachements embryonnaires chez les femelles, testicules et appendices mâles;
- * la mamelle;
- * les bourses séreuses et synovial.

Des foyers bactériens intracellulaires se développent alors dans ces zones, accompagnés d'une réaction lymphocytaire et histiomonocytaire. Dès la deuxième semaine, des anticorps sont produits pour résister à la croissance de l'infection.

Par conséquent, la phase primaire de l'infection entraînera, en général, des blessures légères, selon le stade physiologique et le sexe. De nombreux animaux asymptomatiques restent cependant des porteurs et des excréteurs potentiels (Figure 04). **(Cutler SJ, 2005)**

2. 3. 2. Période secondaire :

La période secondaire est associée à un état de résistance de l'hôte plus ou moins prononcé, lié au développement immunitaire. Cette étape voit soit la disparition de *Brucella*, soit, le plus souvent, leur persistance dans les ganglions lymphatiques à l'état de repos.

(Cutler SJ, 2005)

2.3.2.1. Guérison :

C'est rare. Spontanément, seul un petit pourcentage des animaux se rétablit.

2.3.2.2. Persistance des *Brucella* :

Le cas le plus fréquent est la persistance de *Brucella* dans les ganglions lymphatiques (en particulier les ganglions rétro-mammifères et ceux de la sphère génitale). Cela peut s'étendre sur une longue période. *Brucella*, en particulier, a été trouvée chez certains bovins 9, 10 et 11 ans après l'infection. En effet, *Brucella* est une bactérie intracellulaire facultative qui peut se répliquer et vivre dans les macrophages jusqu'à ce qu'elles soient phagocytées par eux. Il semble que cette faculté soit liée à une partie de la membrane cellulaire de *Brucella*. Il aborde l'essence de ce dernier. **(ALONSO J.M., BERCOVIER H, 1975)**

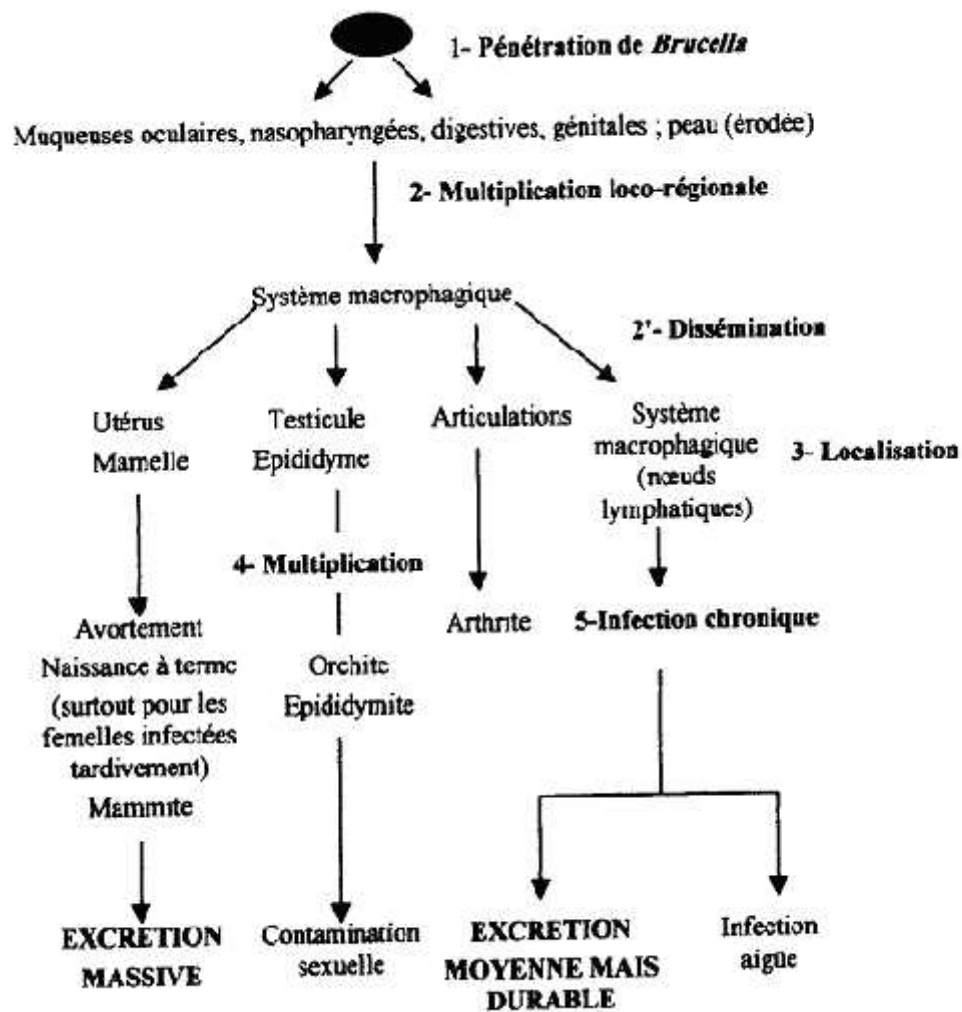


Figure 4: Les étapes de l'infection brucellique (BRICKER B.J., HALLING S.M)

2.4. Réceptivité et sensibilité des différentes espèces animales :

Les brucellas peuvent vivre assez longtemps dans leur environnement dans des conditions favorables. Par rapport à la plupart des autres classes de bactéries pathogènes non sporulantes, leur capacité à éviter l'inactivation dans l'environnement naturel est relativement élevée. (Comité mixte FAO / OMS 1986).

2.4.1 Espèces ovine et caprine :

La brucellose ovine et caprine (ou maladie mélitococcique) est une maladie infectieuse et contagieuse; dû presque exclusivement à *B. Melitensis* et organes reproducteurs (avortements ovins ou caprins, orchite et épididymite masculine); transmissible aux humains et à de nombreuses espèces animales.

Il faut faire une distinction entre la brucellose ovine (brucellose sensu stricto) causée par *B. Melitensis* de l'infection à *B. ovis*, appelée "épididymite contagieuse du bélier

La BCE, qui était auparavant une menace pour la santé de catégorie 2, a été retirée de la liste des risques Depuis juillet 2013, services sanitaires. La BCE non zoonotique se trouve dans et dans le sud-est de la France Pyrénées Atlantique et sa lutte contre cette maladie utilisent des étapes de prophylaxie pour la santé mais même médical avec l'utilisation d'un vaccin B, nécessitant une dispense. Melitensis: Melitensis. (BRICKER B.J., HALLING S.M, 1994)

2.4.1.1 ovins :

Les ovins présentent une sensibilité variable à *B. melitensis* selon les races. En effet, les races laitières, comme les lacunes, semblent plus sensibles. La sensibilité est également individu dépendante. Ainsi pour cette espèce, tous les types de situation peuvent être rencontrés, de l'infection aigüe avec avortement à la résistance totale, ainsi que des formes chroniques.

Deux maladies distinctes résultent de la brucellose ovine. La brucellose classique est causée par *B.melitensis* tandis que la brucellose contagieuse du bélier est principalement causée par *B.ovis* (**B Garin-Bastuji - researchgate.net, 2019**).

Les ovins, à la différence des caprins, semblent présenter une sensibilité variable à *B.melitensis*, selon les races, les races laitières étant généralement plus sensibles. La sensibilité individuelle est également très variable. Ainsi, toutes les situations intermédiaires entre infection aigüe typique, avec avortement, et résistance totale à l'infection, peuvent être rencontrées, en passant par diverses formes chroniques plus ou moins exprimées. Comme chez les bovins, si l'animal jeune pré pubère est bien réceptif, sa sensibilité à l'infection est nulle, la maladie n'étant jamais exprimée à ce stade.

En revanche, la période post pubère, notamment la gestation, constitue la période de sensibilité maximale (**B Garin-Bastuji - researchgate.net, 2019**).

La contagion peut se produire par différentes voies naturelles ou artificielles qui sont d'une importance plutôt inégale. Ensuite, les bactéries pénètrent dans le corps. En quelques jours, ils obtiennent les ganglions lymphatiques correspondant au portail d'entrée de l'infection et arrivent ensuite dans le sang où ils peuvent rester pendant 10 à 30 jours et localisation secondaire préférentielle de la lymphe qui les porte à travers les organes.

La réceptivité est principalement influencée par l'âge:

L'agent infectieux est rarement et rapidement exprimé par les animaux près pubères. Ainsi, la réponse immunitaire chez les animaux gravides est très transitoire, et parfois absente.

Le bacille a une préférence pour le tractus génital chez les femmes enceintes. Les avortements sont la séquence habituelle de la brucellose. Mais l'interruption de la gestation n'intéresse qu'une seule brebis une fois, et rarement deux fois.

L'orchite et l'épididymite sont typiques des manifestations génitales chez les hommes. L'infection ou les dommages aux testicules sont généralement irréversibles.

En plus des sites extra-génitaux chez les deux sexes, la bactériémie contribue à la présence de *Brucella* dans plusieurs organes, les principaux étant les pis (mastite), la moelle osseuse (myélite), les articulations (arthrite), les hygromes, les poumons (pneumonie), la rate (splénomégalie), du foie (hépatomégalie), des gaines tendonales (tendinite) et des ganglions lymphatiques.

Ils resteront longtemps dans ces organes sans prolifération, en raison du manque de certains facteurs de croissance.

2.4.1.2. Caprins :

La brucellose chez les chèvres est causée par *B.melitensis*; à *B.abortus* et *Brucella suis* dans de rares cas. Ils les contractent alors qu'ils passent plus de mois dans la forêt ou ramassent du bétail et des porcs contaminés dans la grange. Les signes cliniques et les lésions ne sont pas différents de ceux observés chez les animaux. La chèvre ne subit qu'un seul avortement et reste latente sur la maladie. Ce n'est pas la guérison comme chez les autres animaux. Cela explique pourquoi la chèvre est le réservoir le plus important pour maintenir et propager l'infection. (AHL R)

2.4.2. Espèce bovine :

La brucellose bovine est causée presque exclusivement par *B.abortus*, beaucoup plus rarement par *B.melitensis* et *B.suis*; lors du désherbage ou vivant avec des porcs, des moutons et des chèvres infectés. (AHL R 2001)

Il ne semble pas exister de races bovines plus résistantes que d'autres à l'infection brucellique. De même aucune étude en conditions contrôlées n'a montré que les males soient plus résistant que les femelles, bien que cela ait été suggéré.

Dans un même troupeau, chaque animal manifeste une sensibilité variable à l'infection selon l'âge et le sexe. Les veaux males et femelles de moins de six mois ne sont pas très

sensibles et ne connaissent généralement qu'une infection passagère. (ACHA J.N., SZYFRES B, 1980)

La contagion et la réceptivité sont les mêmes que chez les ovins.

Les animaux gravides infectés dans l'utérus ou peu de temps après la naissance ne se débarrassent pas complètement de l'agent infectieux, mais ils restent porteurs de *Brucella* sans présenter de réactions sérologiques. Une telle réaction ne se produit pas chez la femelle tant que la première conception n'est pas terminée. (ACHA J.N., SZYFRES B, 1980)

La gestation est un facteur important de sensibilité. Une femelle adulte contaminée hors gestation développera dans plus de 50% des cas, seulement une infection de courte durée spontanément curable.

Sans oublier le facteur d'âge qui joue un rôle important dans la sensibilité car la période de sensibilité maximale est atteinte après le développement complet des organes Génitaux (maladie des animaux pubères). Les animaux pubères peuvent rester infectés pendant toute leur vie, malgré la réponse immunitaire qu'ils développent. Les jeunes, en revanche guérissent souvent de leur infection et ne développent qu'une réaction sérologique discrète et transitoire.

Les implants extra-génitaux sont les mêmes que ceux des moutons. (AUBRY P, NCBI 2018)

2.4.3. Espèce porcine :

La brucellose porcine est principalement causée par l'action de *Brucella suis*; il est parfois déterminé par l'approche de *Brucella* et *B.melitensis*. Les deux individus, quels que soient leur âge et leur sexe, sont susceptibles d'être infectés. Le fait que les jeunes porcelets peuvent être infectés au contact de la mère et rester porteurs jusqu'à l'âge de la puberté. L'avortement, l'orchite et l'épididymite font partie des formes les plus symptomatiques de brucellose chez les porcs et d'infertilité (stérilité). (Anses, 2014)

Les sites extra génitaux sont similaires chez les deux sexes à ceux des ovins et des bovins. De plus, les porcs présentent d'autres signes uniques dans les muscles et les ganglions lymphatiques: arrière-train, boiterie, cachexie et abcès sous-cutanés.

Des foyers de brucellose sont régulièrement observés chaque année en élevage porcin, sachant que les variations (et notamment l'augmentation du nombre de foyers observée en 2005 et 2008) sont difficilement explicables. Toutefois, il est fort probable que certains foyers ne soient pas détectés.

En élevage, l'infection entraîne des troubles de la reproduction sur le long terme, et est difficile à éradiquer, à moins d'un abattage total suivi d'un vide sanitaire. En effet, les animaux peuvent devenir porteurs chroniques, et leur statut individuel est impossible à définir en raison des manques de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques actuels. Par ailleurs, les *Brucella* peuvent résister très longtemps dans le milieu extérieur, jusqu'à 4 mois dans la boue, l'eau et les urines (EFSA, 2009 ; Anses, 2014)

2.4.4. Les animaux domestiques :

2.4.4.1. Les équidés :

La brucellose est une maladie rare chez les chevaux. Deux souches de la bactérie sont responsables d'infections équine, à savoir *B.abortus* (bovin) et *B.suis* (porcine). On pense que l'infection résulte d'un contact direct avec des bovins infectés ou de l'ingestion d'aliments contaminés. Malgré les avortements tardifs et la stérilité des étalons dans la population équine touchée, la plupart des chevaux ont une bursite contagieuse, une tendinite et une synovite. La douleur à la recherche et le garrot fistuleux sont des conditions dans lesquelles se développe une bursite infectieuse agressive dans les tissus et les os de la colonne vertébrale. Le taux de récurrence est élevé et la maladie nécessite souvent plusieurs interventions chirurgicales. La guérison postopératoire peut prendre jusqu'à 8 mois pour se résorber. L'immunisation des chevaux séropositifs avec le vaccin *Brucella Strain 19* augmente considérablement le taux de réussite pour la résolution de la guérison.

(Wagwalking, 2004)

2.4.4.2. Les chameaux et les dromadaires :

Les chameaux ne sont considérés comme aucun des principaux hôtes des organismes, mais ils sont tous deux sensibles à *B. Abortus*, *B. Melitensis: Melitensis*. L'infection des chameaux dépend donc des animaux infectés en contact avec eux. Ainsi, en Iran a isolé *B. melitensis* chez plusieurs chameaux, tandis qu'à Butana région, à l'est du Soudan, où les chameaux étaient élevés avec des bovins, des moutons et les chèvres, Agab et al. Peuvent isoler des souches de *B. abortus* de ganglions lymphatiques des chameaux sérologiquement positifs pour la brucellose. Dans La région du Darfour, qui possède plus de 25% des bovins, ovins et caprin. La brucellose est largement répandue chez ces animaux et l'introduction de chameaux dans les zones à conduit à des niveaux élevés d'incidence comme le montre l'étude. **(Wagwalking, 2004)**

2.4.4.3. Les carnivores :

L'infection du chien a également été confirmée bactériologiquement par l'isolement des différentes espèces de *Brucella* : *B.canis*, *B.abortus*, *B.melitensis* et *Brucella suis*.

La brucellose canine est causée par la bactérie *B.canis*. Elle est très contagieuse entre chiens. La bactérie se transmet principalement par voie orale via des fluides corporels infectés (sperme, urine, écoulements vulvaires lors de l'avortement).

Il y a un léger risque de transmission du chien à l'humain (il y a un peu plus de 40 cas depuis 1960). La brucellose canine est classée comme maladie à déclaration obligatoire aux États-Unis. (OIE, 2011)

En revanche, les chats sont infectés généralement par *Brucella*, très rarement par d'autres espèces et jamais par *B.canis*.

Chez les deux sexes, les manifestations génitales sont caractérisées par un avortement, des abcès testiculaires, une épididymite, une orchite, une prostatite et une infertilité;

La brucellose chez les carnivores, avec bactériémie et progression vers la chronicité, est caractérisée par un gonflement des ganglions lymphatiques. **(Monvet 2018)**

2.4.5. Les animaux sauvages :

Plusieurs espèces sauvages terrestres à travers le monde ont décrit des infections à brucellus. Des infections à *Brucella* ont également été récemment signalées chez diverses espèces de mammifères marins. Pour les animaux sauvages terrestres, une distinction doit être établie entre la pollution brucellique résiduelle due à la transmission par les animaux domestiques. Le risque de brucellose affectant une espèce animale dépend en permanence de nombreux facteurs, dont la sensibilité de l'hôte, la dose d'infection, le contact avec d'autres animaux infectés. La croissance du jeu a favorisé la réémergence de la brucellose à cet égard. **(Monvet 2018)**

La brucellose reste répandue dans de nombreux groupes d'animaux sauvages africains, les principales espèces touchées étant les buffles, les hippopotames et les épis de Défassa.

L'agent pathogène a été trouvé chez des sangliers en France et en Italie en Europe, ainsi que chez des lièvres en Autriche, en France, en République tchèque et en Suisse. La dernière propagation de l'infection chez les porcs domestiques élevés à la lumière du jour indique un réservoir sauvage de la source du pathogène. **(Monvet 2018)**

La brucellose a également été signalée chez les chamois et les cerfs alpins et canadiens. Les mammifères aquatiques ont également isolé le pathogène: bélugas, narvals et phoques annelés. **(Monvet 2018)**

La maladie avait été diagnostiquée chez le wapiti dans l'est de l'Idaho aux États-Unis d'Amérique. Le wapiti a été nourri par les humains dans cette zone pendant de nombreuses années, ce qui augmente considérablement la probabilité de transmission du pathogène.

Dans les régions polaires, seul le biotype 4 de *Brucella suis* affecte le renne, le caribou et le bison, ce qui provoque des maladies chroniques avec avortements, bursite et arthrite.

Chez ces différentes espèces, l'infection est généralement représentée par une symptomatologie proche de celle des ruminants listés ci-dessus. **(Monvet 2018)**

2.4.6. Chez l'homme :

La condition est observée à tout âge, selon Perelman (1970), mais survient entre 20 et 50 ans dans 70% des cas. La prédominance des hommes est liée aux conditions infectieuses (la femme est moins en contact avec des substances virulentes). Dans les zones rurales, 85% à 90% des cas surviennent parce que la maladie touche des personnes vivant avec des animaux réservoirs ou consommant des produits frais. **(www.123bio.net)**

La brucellose humaine est une maladie répandue dans le monde principalement agricole, masculin et de l'emploi. L'homme est beaucoup plus réceptif à *B. melitensis*, moins réceptif à *B. abortus* et surtout à *Brucella suis* et *B. canis*.

De plus, les enfants sont rarement empoisonnés. Ceci est principalement dû à trois facteurs: ils ont une alimentation bien encadrée, ils sont protégés par l'immunité passive de leur mère et ils n'ont presque aucune interaction avec les animaux.

La maladie se manifeste en quatre périodes successives :

La période d'incubation : Correspond au moment de la migration des germes vers les relais ganglions régionaux depuis la porte d'entrée. Cela prend de une à quatre semaines pour terminer. Les bactéries se multiplient par le nombre, la virulence et les réactions de défense qu'elles rencontrent. Ce processus n'a pas de traduction clinique mais est l'objectif principal. **(UBio, 2018)**

La période de dissémination septicémique ou la phase aiguë : Se produit généralement après le temps d'incubation. Les brucellas récupèrent le sang des dépôts lymphatiques et peuvent coloniser divers organes. Les symptômes suivants le montrent: une fièvre ondulante avec accélération du rythme cardiaque, La transpiration est régulière et parfois très

abondante, surtout la nuit, avec un syndrome douloureux vague et intermittent. On les retrouve dans les articulations, les muscles et les os, les myalgies et arthralgies récurrentes, les lymphadénopathies, les splénomégalies légères, les hépatomégalies et les malaises suivis d'une perte de poids progressive. (**UBio, 2018**)

➤ **La période subaiguë (post septicémique ou brucellose localisée)** : Il peut être représentatif d'infections orientées simples ou multiples. Il se comporte comme de nombreuses manifestations cliniques de la maladie. Ils peuvent survenir soit au début du cycle de septicémie, soit quelques semaines après un processus de septicémie pure non reconnu et non traité. Elle est caractérisée par des manifestations ostéo-articulaires, en particulier la spondylodiscite et la sacro-illite, qui sont les symptômes nerveux les plus fréquents et les plus sévères du syndrome de méningo-myélo-radculite, du syndrome d'encéphalite et d'épidurite chronique, entraînant une inflammation de tous les organes génitaux et urinaires et lésions du poumon, de la rate, du tronc, du foie et des yeux. (**uBio, 2018**)

➤ **La brucellose chronique** : Il fait généralement suite à une brucellose aiguë ou à quelques rechutes. Avec une diminution des symptômes, les aspects cliniques de ce trouble sont aggravés avec le temps. L'asthénie psychique sexuelle et physique, les vagues douleurs intermittentes, la dystonie neurovégétative, la fièvre et la transpiration sont toutes exprimées sous cette forme.

Cependant, la brucellose humaine a toujours été mortelle et est toujours considérée comme une maladie grave malgré les thérapies modernes. (**UBio, 2018**)

3. différentes méthodes utilisées dans le diagnostic de la brucellose :

Le diagnostic repose sur des analyses sérologiques (sérum/lait) et bactériologiques. Seule une analyse bactériologique positive peut confirmer le diagnostic, mais plusieurs semaines peuvent être nécessaires pour obtenir les résultats de la mise en culture. La réussite de l'éradication de la maladie dépend d'un dépistage rapide et précis.

Deux méthodes peuvent être utilisées en laboratoire pour le diagnostic de la brucellose: la recherche d'agents pathogènes dans les produits pathologiques et la mise en évidence d'anticorps sériques spécifiques et d'hypersensibilité retardée. Nous proposons d'étudier les principales techniques en vue d'identifier leurs indications en fonction des stades de la maladie. (**OIE, 2011**)

3.1. Diagnostic bactériologique :

C'est un diagnostic direct dépendant du stade de l'infection et de l'isolement de la bactérie à partir d'un échantillon biologique (sang, moelle osseuse ou autre).

Sérodiagnostic dans 95% des cas, mais il est nécessaire de combiner les tests.

Stade de la maladie	Hémoculture	Wright	Rose Bengale	RFC	IFI	IDR
Phase aiguë	+++	+	+/-	+/-	+/-	-
Phase subaiguë	+	+++	+++	+++	+++	+
Phase chronique	-	+/-	+/-	+/-	+	+++

Tableau 03 : Utilité des méthodes du diagnostiques en fonctions du stade de la maladie.

L'isolement des Brucella en culture est la technique de référence pour établir un diagnostic certain de brucellose. Toute suspicion doit être signalée au laboratoire réalisant la mise en culture des prélèvements, en raison du risque élevé de contamination du personnel technique. Les cultures doivent être réalisées en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (P3). La bactérie est le plus souvent isolée à partir du sang Par hémoculture. Il est indispensable que le clinicien précise l'orientation clinique, afin que les flacons insérés dans des systèmes automatisés puissent être incubés plus longtemps. **(EBADI A., ZOWGHI E, 1983)**

L'hémoculture est à peu près constamment positive dans la phase aiguë, et encore fréquemment dans la Phase subaiguë focalisée. La recherche des germes n'est que très exceptionnellement positive dans les brucelloses chroniques. **(EBADI A., ZOWGHI E 1983)**

La recherche des brucelles peut se pratiquer à partir d'autres prélèvements (ganglion, moelle osseuse, liquide céphalo-rachidien, pus de foyer...). Ces prélèvements serontensemencés sur gélose au sang et gélose chocolat et incubés à 37 °C sous 5 à 10 % de CO₂. La culture est lente (> 48 heures). Les colonies lisses, translucides, non hémolytiques, à bords réguliers, de coccobacilles à Gram négatif sont aérobies strictes, catalase +, oxydase + et possèdent une uréase et une nitrate réductase. **(EBADI A., ZOWGHI E, 1983)**

3.2. Diagnostic sérologique :

C'est un diagnostic indirect le plus utilisé, Il utilise des épreuves de base, destinées au dépistage de masse, associées à des épreuves complémentaires pour élucider le cas des réponses douteuses. Les prélèvements intéressent le sang, pris sur l'animal vivant et à l'abattoir, et le lait. Le dépistage met en évidence les anticorps, témoins de l'infection. Celle-ci apparaît après une période variable d'incubation, puis tend à devenir chronique, avec des anticorps de classes IgG1, IgG2 et IgM en proportions relatives différentes selon le stade d'évolution de la maladie. Par ailleurs, la vaccination, souvent utilisée, est elle-même responsable de la formation d'anticorps des mêmes classes. 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, de plus, être économique, simple et rapide à effectuer puisqu'elle s'adresse à une très grande quantité de prélèvements. Aucune épreuve sérologique ne possède toutes ces qualités. **(EBADI A., ZOWGHI E, 1983)**

Les réactions sérologiques utilisées dans le diagnostic de la brucellose sont nombreuses, mais il existe une parenté antigénique avec d'autres germes (*Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* O9, *Vibrio cholerae*) à l'origine de fausses réactions positives. Les IgM apparaissent les premières et sont décelées à partir du 10^e jour après le début clinique de la maladie. Les IgG sont décelables ensuite, et les titres des deux classes (IgM et IgG) s'élèvent ensemble pendant la phase aiguë de la maladie. Le taux d'IgG devient alors prépondérant, surtout dans les phases tardives de l'infection aiguë. **(UBio, 2018)**

Dans la phase chronique, les IgM disparaissent tandis que les IgG persistent. Il est important toutefois de préciser qu'on ne peut pas différencier par la nature des anticorps la phase d'évolution de la maladie, car la cinétique des différentes classes d'anticorps n'est pas absolue et varie d'un individu à l'autre.

EAT et FC sont les méthodes les plus fréquemment utilisées chez les petits ruminants et sont les seules mesures recommandées pour le commerce extérieur. De plus, les anticorps produits par le vaccin Rev.1 ne peuvent être distingués de ceux provoqués par une infection normale. De même, lors de l'analyse des résultats sérologiques, il faut tenir compte du contexte vaccinal du troupeau. De plus, ces 2 tests ne sont pas suffisamment précis pour distinguer les réactions sérologiques liées à *B.melitensis* des réactions sérologiques faussement positives liées à des bactéries antigéniques telles que *Yersinia enterocolitica*. **(FENSTERBANK R., PARDON, 1977)**

3.2.1. Épreuve à l'antigène tamponné (E.A.T) :

L'EAT est une épreuve très sensible. Cependant, comme toutes les autres épreuves sérologiques on peut parfois observer des réactions positives du fait de réactions sérologiques faussement positives (RSFP). Aussi, toute réaction positive doit-elle être confirmée selon une procédure appropriée incluant la mise en œuvre d'autres épreuves et une enquête épidémiologique. Des réactions négatives par défaut sont rares et sont souvent liées à un phénomène de zone, aisément mises en évidence en diluant le sérum avant l'épreuve ou en testant de nouveau l'animal plus tard.

Cette épreuve est une simple agglutination rapide utilisant un antigène coloré au Rose Bengale et tamponné à un pH bas, habituellement $3,65 \pm 0,05$. Pour le dépistage par l'épreuve à l'antigène tamponné (EAT), c'est le BENGATEST qui est utilisé. C'est un antigène tamponné coloré par le Rose Bengale pour le diagnostic sérologique de la brucellose par agglutination rapide sur lame.

(PDF) Diagnostic de la Brucellose bovine – ResearchGate

Stade de la brucellose	Hémo cultures	Wright	E.A.T. ou Rose Bengale	Fixation du complément	Immuno-fluorescence	Intradermo-réaction
Aiguë	+++	+	=	=	=	-
Subaiguë ou focalisée	+	+++	+++	+++	+++	+
Chronique		=	=	=	+	+++

Tableau04 : méthode de diagnostic de la Brucellose en fonction du stade de la maladie.

(OIE, 2011).

3.2.1.1. Principe :

La réaction à l'antigène au Rose Bengale, ou antigène tamponné, est une réaction d'agglutination rapide utilisant comme suspension bactérienne, *B.abortus*, colorée au Rose Bengale en milieu acide tamponné. Après mélange à parts égales d'antigène au Rose Bengale et de sérum, on observe l'apparition d'agglutinats colorés en cas de brucellose. La limite de sensibilité est de 25 UI/ml.

Cette approche est l'une des méthodes les plus simples à utiliser en prophylaxie. C'est une excellente méthode de suivi et d'identification précoce des bovins infectés (*B.melitensis*, *B.abortus* et Am). (**ITIS, 2018**)

3.2.1.2. Matériel :

Antigène de la rose Bengale constitué d'une suspension condensée de *B. abortus* 99 (Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%) dans un tampon acide (lactate PH 3,65) et colorée à la rose Bengale.

- Des tubes stériles et sec et sans anticoagulants ;
- Les sérums à tester ;
- Des pipettes automatiques de 30µl ;
- Des embouts pour pipettes ;
- La plaque (spécifique pour le test au rose Bengale);
- Les baguettes (pour Mélanger l'antigène et le sérum);
- Une minuterie;
- Les portoirs;

(ITIS, 2018)

3.2.1.3. Mode opératoire :

1. Porter le flacon à la température ambiante (18-30°C). Agiter le flacon pour homogénéiser la suspension.
2. Sur le support, déposer 30 µl du sérum à étudié et 30 µl de l'antigène tamponné.
3. Mélanger avec l'agitateur à usage unique.
4. Agiter de temps en temps le mélange et observer l'apparition éventuelle d'une agglutination en 4 minutes. (**ITIS, 2018**)

3.2.1.4. Interprétation :

La lecture se fait à l'œil nu et ne doit être prise qu'après le temps d'agitation de la plaque, car des réactions non spécifiques peuvent survenir par la suite.

Les résultats sont représentés par des croix, allant de + à +++ où les agglutinats sont au maximum de visibilité.

Réaction négative : absence totale d'agglutination → le sérum est négatif.

Réaction positive : agglutination même minime → le sérum est positif.

Si ce test est utilisé pour le dépistage d'une brucellose, il est recommandé de confirmer un résultat positif par d'autres techniques (ex. sérodiagnostic de Wright).

(www.bio-rad.com)

3.2.2. Diagnostic de Wright:

C'est la technique de référence actuelle préconisée par l'OMS, car elle est standardisée. Il s'agit d'une technique d'agglutination en tube qui met en évidence la présence d'anticorps de type IgM essentiellement ; il est donc utilisé dans le diagnostic de la brucellose aigue.

Il existe des faux positifs, mais aussi des faux négatifs liés à l'existence d'anticorps bloquants (de type IgG ou IgA) ou encore liés à un phénomène de zone. C'est pourquoi la recherche des anticorps bloquants est obligatoire lors d'un résultat négatif, de même que l'agglutination avec toutes les dilutions du sérum pour éviter le phénomène de zone.

La sensibilité du test dans la brucellose chronique est également déficiente, mais conserve son indication principale dans la brucellose aiguë. (**ITIS, 2018**)

Il faut cependant noter ses inconvénients. Son exactitude est mise en doute pour les réactions faussement positives de sujets vaccinés contre le choléra ou de patients infectés par *Yersinia enterocolitica* du groupe 9. De même, l'infection à *Pasteurella* fonctionnera après un sérodiagnostic correct.

3.2.2.1. Principe :

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

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

3.2.2.2. Matériel :

- Agitateur type vortex.
- Incubateur
- - L'eau phénolée : c'est une solution préparée comme suit :
 - NaCl.....8,5 g
 - Phénol.....5 g
 - Eau distillée.....100 ml

- Pipettes, multipipettes, automatiques ou semi-automatiques, réglables
Ou fixes pouvant distribuer de 10 à 1000µL et 1, 2 et 10 ml
- Tubes à hémolyse. (**ANDRIAMBOLOLONA L, 1977**)

3.2.2.3. Mode opératoire :

a. Délutions des sérums :

Les dilutions du sérum à tester sont effectuées directement avec la suspension bactérienne.

- Disposer sur un portoir une série de 9 tubes à hémolyse (de 5 ml de préférence) rigoureusement propres.
- Introduire dans le 1er tube: 1,9 ml de suspension antigénique + 0,1 ml de sérum à étudier. Homogénéiser.
- Introduire 1 ml de suspension antigénique dans chacun des tubes numérotés de 2 à 8 et 250 µl dans le tube n° 9.
- Prélever dans le 1er tube 1 ml du mélange (qui représente la dilution au 1/20 du sérum étudié) et l'introduire dans le tube n° 2. Homogénéiser.
- Prélever 1 ml dans ce 2ème tube et le transférer dans le tube n° 3. Homogénéiser.

- Procéder de la même façon jusqu'au tube n° 8, la quantité de 1 ml prélevée dans ce dernier tube étant jetée.
- Ajouter 750 µl d'eau physiologique dans le tube n° 9 qui sert de témoin de titration.

(ANDRIAMBOLOLONA L, 1977 ; TRAP D., Gaumont R, 1975)

	1	2	3	4	5	6
Sérums/ml	0,20	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Soluté physiologique phénolé	0,80	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Dilutions initiales du sérum	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160

Tableau05 : Montre les différentes étapes de la dilution.

Antigène (ml)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Dilutions finales du sérum	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320

Tableau 06 : Ajout de 0,50 ml d'antigène prêt à l'emploi dans n'importe quel tube.

De plus, des contrôles négatifs sont préparés pour chaque séquence selon le protocole suivant.

Intensité de l'agglutination	0	+	++	+++	++++
% d'éclaircissement	0%	25%	50%	75%	100%
Soluté physiologique phénolé (ml)	0	0,25	0,50	0,75	1
Antigène dilué au 1/2 (ml)	1	0,75	0,50	0,25	0

Tableau 07 : Préparation des témoins négatifs.

B .Incubation :

Placer les tubes à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures après les avoir bouchés (bouchon, parafilm).

En cas de nécessité, cette incubation peut être remplacée par une centrifugation de 5 minutes à 250 g. (KJ Ryan et CG Ray, 2004)

C .lecture :

Examiner les tubes, sans les secouer, sur fond noir, avec une source lumineuse située au-dessous et derrière les tubes.

- Constater, en premier lieu, l'absence d'agglutination dans le tube témoin de titration.
- Plusieurs types d'agglutinats peuvent être observés :
 - agglutinats en crêpe dans le fond du tube avec liquide clair (+++),
 - agglutinats très visibles avec liquide légèrement trouble (++),
 - agglutinats visibles seulement à l'agglutinoscope (+).

L'absence d'agglutinats traduit une réaction négative (-).

En cas de réaction positive, le titre du sérum testé correspond à la plus haute dilution donnant un trouble analogue à celui du témoin de titration. **(KJ Ryan et CG Ray, 2004)**

3.2.2.4. Interprétation :

Un titre supérieur ou égal à 1/80 (120 U.I/ml) indique une brucellose active ; ce taux est habituellement dépassé.

- Un titre plus faible (1/40, et même 1/20) doit éveiller la suspicion et justifie un sérodiagnostic quelques jours plus tard. **(KJ Ryan et CG Ray, 2004)**

3.2.3. Réaction de fixation du complément (R.F.C) :

La réaction de liaison du complément montre des IgG difficiles à mettre en œuvre. Par conséquent, il est également optimiste plus tard et reste positif pendant une durée plus longue.

3.2.3.1. Principe

La théorie de la réaction F.C consiste à imaginer la présence ou l'absence d'une réaction antigène-anticorps, grâce à un complément qui se lie après sa création au complexe antigène-anticorps. Ainsi, en ajoutant le complexe hémolytique (mouton G.R + anticorps anti-mouton G.R), le complexe antigène-anticorps et complément est libéré.

La réaction à la fixation du complément peut être réalisée soit par la technique de Kolmer, soit par la technique de Debains. Il s'agit d'une réaction raisonnablement résistante, positive dans 60% des cas de brucellose chronique. La mucoviscidose est le principal outil de diagnostic utilisé dans les campagnes d'éradication. **(KJ Ryan et CG Ray, 2004)**

3.2.3.2. Matériel :

- Un bain –marie
- Des tubes à essai
- Des portoirs
- Un étuve
- Un réfrigérateur
- Un solution tamponnée pour la dilution des sérums
- Le tampon V.C.M (Véronal, Calcium, Magnésium)
- les sérums à tester.
- Une suspension condensée de *B.abortus* (souche Weybridge S 99), inactivée par la chaleur et le phénol, est l'antigène brucellique de la réaction de fixation du complément. Cet antigène permet d'identifier sérologiquement la brucellose (*B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*). Avec le deuxième sérum international de Weybridge (E.I.S.A.b. S) dilué au 1/200, il est optimisé pour donner 50% d'hémolyse.
- Le complément : c'est un de cobaye, lyophilisé, dilué au 1/31 dans le tampon VCM ;
- Un complexe hémolytique: il est constitué de globules rouges de mouton lavés dans une solution tampon et mis en suspension dans de l'eau physiologique et du sérum de globules rouges anti-mouton, préparés sur lapins.
- Des sérums témoins. **(KJ Ryan et CG Ray, 2004)**

3.2.3.3. Mode opératoire :

La technique employée est la forme Kolmer avec fixation du complément froid.

La réaction de fixation complémentaire se produit en deux étapes :

En utilisant une micropipette de tampon V.C.M de 0,2 ml, une première étape (premier jour) dans le nombre souhaité de tubes est distribuée dans tous les tubes. 0,2 ml de sérum est ensuite ajouté au premier tube à tester et décomplémenté (chauffé à 56 ° C pendant 30 minutes. 0,2 ml est amené dans le deuxième tube après homogénéisation, et ainsi de suite. Enfin, tous les tubes sont complétés avec 0,2 ml de l'antigène brucellique et 0,2 ml de complément. De plus, des sérums de test sont préparés pour chaque séquence

Un témoin complément

Un témoin sérum

Un témoin complément hémolytique

Un témoin globules rouges de mouton

Les portoirs sont placés à 4°C pendant une nuit.

-Le supplément hémolytique est préparé de la manière suivante au cours du deuxième cycle (deuxième jour):

* Globules rouges chez le mouton 1 millilitre

* Sérum anti-globules rouges ovin 4 gouttes

* Puffer 100 millilitres.

Le complément hémolytique est incubé à 37 ° pendant 30 minutes dans le bain-marie et les portoirs sont mis dans les dernières minutes pour que la température dans les deux préparations soit la même, puis 0,5 ml du complément hémolytique est ajouté dans tous les tubes. L'incubation dure 30 minutes et s'effectue dans les mêmes conditions qu'avec le complément hémolytique. **(ANDRIAMBOLOLONA L, 1977)**

3.2.3.4. Interprétation :

La lecture se concentre sur l'hémolyse des globules rouges chez le mouton:

· Si le complément antigène-anticorps est défini, les globules rouges ne seront pas lysés: la réaction sera positive.

Alternativement, en l'absence d'anticorps sériques, la deuxième étape de la réaction est remplacée et les globules rouges sont lysés: la réaction est négative.

(ANDRIAMBOLOLONA L, 1977)

3.3. Diagnostic allergique ou l'intradermoréaction à la mélinite :

Contrairement aux techniques ci-dessus qui utilisent des antigènes lipopolysaccharidiques, cette technique utilise un antigène protéique extractible de *Brucella* qui est très spécifique. La mise en évidence de l'allergie brucellienne par intradermoréaction peut être le seul signe biologique d'une brucellose chronique.

La mélinite de Bumet est le filtrat de culture en bouillon *B. melitensis*. Une injection intradermique (0,1 ml) est administrée sur la face antérieure de l'avant-bras. Afin d'éviter la cause d'erreur due à une hypersensibilité aux protéines du bouillon utilisées pour la préparation de la mélinite, une injection témoin du bouillon est fournie à l'autre avant-bras, qui doit rester négatif. **(MEINERSHAGEN W.1944)**

3.3.1. Principe :

Il consiste à déposer de la mélinite dans les tissus d'un animal (la paupière inférieure) pour provoquer une réaction d'hypersensibilité retardée à des fins diagnostiques chez l'infecté qui se traduit par des manifestations locales ou générales **(MEINERSHAGEN W. 1944)**

3.3.2. Matériels :

L'antigène: il s'agit d'un extrait pur de protéine de *B. melitensis* au procédé extrême, titré à «Brucelline ou une haptène allergique particulier» Brucellergène OCB ® 2000 UI / ml.

- Les seringues et aiguilles. (MEINERSHAGEN W.1944)

3.3.3. Méthodologie de l'intradermoréaction à la mélitine et interprétation des résultats :

Afin de confirmer ou d'exclure la brucellose chronique chez ces animaux, nous avons étudié le protocole de la réaction intradermique à la mélitine chez les animaux qui ont répondu négativement à l'E.A.T et positifs à la réaction de fixation du complément.

(MEINERSHAGEN W.1944)

3.3.4. Interprétation :

Les résultats sont basés sur des rapports faisant état d'une réaction érythémateuse et d'un œdème local (réaction inflammatoire locale) mis en évidence par l'augmentation de l'épaisseur de la peau observée aux points d'injection 48 heures après l'injection de mélitine. Cet œdème sera basé sur un nodule chez la brebis. (MEINERSHAGEN W.1944)

Le développement du H.S.R avec la mélitine est plus lent que celui des anticorps; il continue après la récupération pendant une longue période et parfois même à vie.

Stade de la maladie	Hémoculture	Wright	Rose Bengale	RFC	IDR
AIGU	+++	+	+/-	+/-	-
SUBAIGU	+	+++	+++	+++	+
CHRONIQUE	-	+/-	+/-	+/-	+++

Tableau 08 : Utilité des méthodes diagnostiques en fonctions du stade de la maladie.

- La positivité du test a été évaluée selon les critères suivants :

Réaction négative: en l'absence de signes cliniques ou d'œdème, il y a une réaction négative.

Réaction positive: chez les animaux, il y a une réaction positive lorsque des signes cliniques ou un œdème apparaissent.

4. Prophylaxie:

La brucellose est l'une des maladies animales et humaines de la plus grande importance. C'est aussi la source de pertes économiques importantes et de problèmes de santé publique dans le monde.

La prophylaxie de la brucellose est caractérisée par une prophylaxie sanitaire destinée à inspecter et tuer les animaux infectés et une prophylaxie médicale visant la vaccination. La meilleure façon de traiter la brucellose ovine et caprine est d'intégrer des interventions sanitaires et médicales en termes de prophylaxie. **(BENKIRANE A, 2001)**

De plus, l'éradication de la brucellose ovine comprend des mesures réglementaires et législatives:

- La déclaration de brucellose est d'une importance vitale pour la prophylaxie; il s'est avéré très efficace de promulguer une législation créant la déclaration de la brucellose obligatoire dans divers pays.
- Les décrets, arrêtés et législations qui se chevauchent sont rédigés en termes clairs et couvrent tous les aspects des plans de prophylaxie approuvés. De plus, ils doivent être régulièrement mis à jour pour éliminer les contraintes lorsqu'ils ne sont plus nécessaires et modifiés au fur et à mesure que la maladie progresse. **(BENKIRANE A, 2001)**
- Les systèmes vétérinaire et de santé publique coopèrent et appliquent toutes les mesures législatives et réglementaires pour la protection de la santé publique;
- L'Etat doit allouer les fonds nécessaires aux programmes de prophylaxie, payer le vaccin, payer une compensation pour les animaux enlevés et soutenir les propriétaires de troupeaux indemnes de brucellose sous forme de primes.
- La coopération des éleveurs avec les services vétérinaires est importante pour la mise en œuvre des programmes. Ce partenariat ne peut être réalisé que grâce à une campagne préalable de sensibilisation du public à l'énergie en général et à l'éducation sanitaire des éleveurs en particulier. **(BENKIRANE A, 2001)**

4.1. Prophylaxie sanitaire :

Difficile de détecter la brucellose dans un troupeau. Il est difficile d'appliquer les méthodes bactériologiques normales, car seuls le fœtus ou les membranes placentaires donnent des cultures positives, qui ne sont presque jamais oubliées du sang, de l'urine.

L'enjeu est également majeur d'un point de vue sérologique.

La prophylaxie sanitaire est centrée sur les étapes concernant l'assainissement:

- Séparation et séquestration du troupeau atteint et mis sous surveillance. Par ordre à la préfecture.

- Un décompte des animaux affectés et mis sous surveillance dans le troupeau.

- L'étiquetage des animaux du troupeau et mis sous surveillance par les agents des services vétérinaires départementaux à l'oreille, permettant aux animaux marqués de quitter la ferme uniquement sous le contrôle normal des laissez-passer.

- L'interdiction imposée sous contrôle aux troupeaux de pâturage.

- Interdiction de vendre des animaux du troupeau affecté et contrôlé, à l'exception de l'abattage du bétail indemne, sous le contrôle normal d'un laissez-passer.

- Interdiction de la vente et du transport du lait du troupeau affecté.

- Destruction de corps, avortements, fœtus, naissances, etc., après leurs soins de désinfection. (

- Abattage de tous les animaux du troupeau contrôlé, âgés de plus de 6 mois, présentant une bonne séroration; le reste du troupeau est soumis à une nouvelle régulation sérologique, suivie du retrait des réacteurs. Ce n'est qu'après avoir produit deux séro-réaction négatives dans leur intégralité, à 6 mois d'intervalle, cette fois doit impliquer une gestation naturelle, le troupeau est dit assaini. **(BENKIRANE A.2001)**

Désinfection: une solution de chlorure de chaux contenant 4% à 5% de chlore actif ou une solution de solution de crésyle ou d'hydroxyde de sodium après élimination de la litière et du balai, des murs et des plafonds est utilisée pour la désinfection des étables et divers locaux.

Le chou rapide devrait également être répandu. Retirez la couche supérieure des excréments souillés et lavez le sol exposé avec une solution de chlorure de chaux contenant 4 à 5% de chlore actif pour nettoyer le sol. Les vêtements de travail sont désinfectés en les faisant bouillir dans une solution de soude à 2% pendant 30 minutes ou en les trempant dans une solution de chloramine à 1% pendant 3 heures. Le fumier est récolté dans des fermes contaminées par la brucellose et subit une désinfection thermique. La méthode de stockage et de désinfection simultanée est utilisée pour le cuir et la peau, dans une solution saturée de chlorure de sodium. La laine est désinfectée dans des solutions avec de la lessive alcaline chaude. Le service aux troupeaux doit être suspendu pendant au moins deux mois pour nettoyer les pâturages sur lesquels des animaux contaminés ont été conduits. Enfin,

l'herbe doit être tondu malgré les terres agricoles polluées.

· Agrément du préfet pour le repeuplement des locaux et pâturages mis sous surveillance sanitaire sous certaines conditions fixées par les services vétérinaires.

.Réglementation de la transhumance des troupeaux contrôlés par arrêtés préfectoraux pour éviter que les troupeaux adjacents indemnes ne soient pollués.

· Levée immédiate du contrôle après désinfection; si tous les animaux du troupeau sous observation ont été abattus ou si la maladie a disparu; juste deux séro-réaction négatives, à 6 mois d'intervalle, sur l'ensemble du troupeau. (**VALETTE L, 1978**)

.Contrôle à la ferme, dans le but de suivre régulièrement les troupeaux sains et de poursuivre la chasse aux animaux infectés dans ces troupeaux. Une séro-réaction sur tous les animaux de plus de 6 mois; sur les troupeaux en assainissement annuellement. (**VALETTE L, 1978**)

4. 2. Prophylaxie médicale :

La prophylaxie sanitaire consiste en la vaccination préventive des animaux infectés; il peut être utilisé en complément de la prophylaxie de la santé.

La vaccination contre la brucellose ovine comprend de nombreux types de vaccins:

4.2.1. Les vaccins vivants atténués :

Plusieurs vaccins vivants atténués ont été essayés chez les ovins (qui semblent également difficiles à immuniser pour les animaux). Parmi les vaccins utilisés :

Le vaccin B19 (souche Buck 19) a été principalement utilisé en Union soviétique, dont les résultats sont principalement évalués en réduisant le nombre d'avortements, mais l'immunité est de courte durée. Elle ne détermine qu'une protection partielle contre l'infection, la souche B19 est pathogène pour l'homme et en particulier son inconvénient majeur, qui, en réponse à l'expression de Verge "condamne l'utilisation de B19 réside dans l'apparition d'agglutinines post-vaccinales spécifiques". (**VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972**)

Le vaccin Rev 1 est probablement le plus utilisé chez les ovins.

On notera en particulier les bons résultats des vaccinations massives réalisées par VAN DRIMMELEN en Afrique du Sud, où cet auteur améliore l'efficacité du vaccin en y ajoutant un excipient huileux qui n'altère pas sa viabilité. Deux ans et demi plus tard, les brebis vaccinées à 15 mois sont encore très bien immunisées; vaccinés avant la première gestation, ils résistent encore à l'infection après la deuxième gestation; les agneaux de brebis vaccinés à 4 mois sont bien immunisés 18 mois plus tard, et le reste après le second. D'autres

observations confirment cette sécurité avec le vaccin Rev 1, Cependant, avec des résultats variables concernant la durée et la force de l'immunité, le vaccin protège contre l'infection par le biotype 2 de *B. melitensis* mais est moins robuste que le biotype 1. Le vaccin Rev 1 est donc efficace. La souche de lait est excrétée par moins de 3 pour cent des brebis.

Evidemment, l'inconvénient majeur de ce vaccin est son pouvoir agglutinogène deux mois après la vaccination, les brebis ont un titre d'anticorps qui ne dépasse pas 1/160, mais il faut 19 mois pour attendre que ce titre chute à 1/40. **(VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972)**

Le vaccin H38 facile à conserver a été largement utilisé au cours ; des années passées sur les ruminants de toutes les espèces et leur efficacité ont souvent été reconnues.

Un vaccin tué "*B. melitensis*, souche 53 H. 38, formol, dans un véhicule huileux" a toujours donné de meilleurs résultats que ceux d'autres vaccins testés simultanément. Ce vaccin s'est avéré efficace pendant au moins 18 mois, probablement 32 mois, dans une expérience menée dans les conditions naturelles de l'infection par la brucellose.

En revanche, elle nécessite deux injections à un an d'intervalle, qui sont fortement agglutinogènes et provoquent souvent des réactions lors de la seconde opération au site d'injection, même sans erreur technique. **(VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972)**

La souche B112 de *B. abortus* utilisée en association avec *B. melitensis* tué et un adjuvant, la saponine, doit également être mentionnée parmi les vaccins vivants. Ce vaccin est efficace surtout si l'on considère la réduction du nombre d'avortements. Cependant, la durée de l'immunité ne semble guère dépasser un an; les anticorps agglutinants disparaissent assez rapidement, car 90% des animaux sont «négatifs» quatre mois après la vaccination.

(VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972)

4.2.2. Les vaccins inactivés ou tués :

Le vaccin 45/20 ; Un vaccin préparé à partir de la souche brute 45/20 de *B. abortus* et ajusté avec du «falba» et de l'huile de paraffine, une expérience sur les bovins a montré qu'il leur confère une immunité considérable lorsque deux doses sont administrées à six semaines d'intervalle. Son avantage essentiel est qu'il manque de pouvoir agglutinogène. Mais la critique la plus importante adressée à ce vaccin est son pouvoir immunogène relatif. En revanche, LAFENETRE, par rapport à cinq vaccins, place clairement le vaccin 45/20 en tête. Ce qu'il note alors qu'il ne peut pas classer le H. 38 Parce que certains animaux ont conservé une sérologie positive après la vaccination. **(VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972)**

Un nouveau vaccin antibrucellique inactivé, destiné aux espèces ovine et caprine, préparé

selon un procédé précédemment décrit comme P.B. (Pilet et Bonneau), fabriqué à partir de la souche Rev.1 Elberg *B.melitensis*. L'absence d'agglutinogénicité du vaccin a été évaluée sur des lapins et des souris. Son pouvoir immunogène était excellent, après avoir été vérifié par un test d'infection sur la souris DBA2.

En conclusion, bien qu'elle puisse être combattue par la vaccination des bovins, ovins et caprins, l'objectif le plus urgent, son éradication, dépend de l'identification et de l'élimination des animaux infectés, ce qui nécessite des laboratoires modernes et bien équipés. (VALETTE L, 1978 ; ROUX J, 1972)

5. Incidences :

La brucellose est depuis longtemps une maladie connue en Afrique, tant chez l'animal que chez l'homme. C'est une maladie qui évolue de manière chronique et il est difficile d'évaluer son importance avec la méthode d'élevage dominante qui est errante, transhumante et nomade.

Cependant, les Services vétérinaires officiels commencent à s'intéresser à cette maladie, suite à la maîtrise de la plupart des grandes épizooties qui ont décimé le bétail (peste bovine, pleuropneumonie contagieuse, etc.) et à l'intensification de l'élevage laitier dans de nombreux pays d'Afrique subsaharienne. Pays africains. (PHILIPPON A, 1968)

5.1. Incidence sur l'économie :

La brucellose est une maladie hautement contagieuse qui a un impact économique considérable sur le développement des industries animales. Elle est également considérée comme la zoonose la plus répandue au monde et constitue une menace sérieuse pour la santé humaine.

La large répartition géographique fait de la brucellose un problème mondial. Sur le plan hygiénique, la brucellose représente par la fréquence et la gravité des cas humains à partir de l'animal et de ses productions, une zoonose majeure. (CORBEL M.J; PHILIPPON A, 1968)

La maladie a des conséquences graves sur les exploitations, telles que les avortements, la mortalité, la stérilité adulte et la perte de lait et de viande, ces pertes économiques sont très variables selon les pays et des données très variées doivent être prises en compte:

propagation de la maladie, espèces animales touchées, valeur relative des animaux selon les données économiques du pays concerné, Possibilités de reconstitution d'un troupeau en

bonne santé, besoins alimentaires des populations; etc., bien que les conséquences ne soient pas les mêmes dans les pays riches et pauvres, elles sont encore lourdes à supporter.

Il est difficile de donner une estimation précise de ces pertes; cependant, toutes les études réalisées à cet effet conviennent que la prophylaxie de la brucellose basée sur la vaccination est économiquement avantageuse et que les avantages d'un programme de vaccination sont cumulatifs. Les pertes économiques sont donc directement liées à la prévalence de la maladie dans le troupeau. **(CORBEL M.J; PHILIPPON A ,1968)**

5.2. Incidence sur la santé publique :

Bien que *Brucella suis* soit reconnue comme ayant un rôle important dans les infections humaines dans plusieurs régions du monde (Asie du Sud-Est, Europe centrale et occidentale, Amérique du Nord), dans la région méditerranéenne et au Proche et Moyen-Orient, *B. melitensis* est l'agent causal des cas de brucellose humaine les plus graves.

La maladie peut entraîner la mort; le plus souvent, il conduit à une maladie débilitante aiguë ou chronique avec de graves conséquences économiques et sociales. Les pertes causées par la brucellose sont donc très importantes, notamment dans les pays d'Afrique du Nord et du Proche-Orient, où les services vétérinaires et les services de santé publique ne sont pas suffisamment bien structurés, et aussi en raison du contexte social et de certaines habitudes culinaires de ces pays. **(CORBEL M.J; PHILIPPON A, 1968)**

Les populations rurales vivent en fait en contact étroit avec leurs animaux et préfèrent généralement consommer du lait et des produits laitiers crus ou légèrement acidifiés, Dans environ 85% des cas en Algérie, ces aliments sont considérés comme la source de l'infection.

En Espagne, le coût de la brucellose humaine a été estimé à 1 000 patients atteints de la maladie. Les résultats suivants ont été rapportés: pour un séjour hospitalier moyen de 13 jours, le coût direct moyen par patient est de 2 500 \$, l'absence moyenne du travail est de 102 jours; le tout entraînant un coût total de 8 000 \$ par patient. En Algérie, en ne tenant compte que des cas de septicémie aiguë, nécessitant en moyenne 7 jours d'hospitalisation et 45 jours de soins à domicile, il a été constaté que les coûts pour chaque patient s'élevaient à huit mois de «salaire interprofessionnel minimum». **(CORBEL M.J; PHILIPPON A, 1968)**

6. Traitement :

Le traitement des animaux n'est pas recommandé et doit être évité en raison de son coût, du risque de développer une résistance et du manque de garanties pour le blanchiment de l'animal traité. La prophylaxie est le seul contrôle possible et repose sur des mesures médicales et sanitaires

Le traitement de la brucellose repose essentiellement sur une bithérapie avec différentes combinaisons d'antibiotique (doxycycline/rifampicine ou doxycycline/streptomycine ou doxycycline/gentamicine). La durée du traitement dépend du type de brucellose, aigue ou localisée. Pour ce dernier cas, les mêmes associations sont utilisées mais de manière plus prolongée (au minimum trois mois).

La chirurgie est souvent nécessaire en cas d'endocardite (chirurgie valvulaire) et est parfois nécessaire en cas de localisation ostéo-articulaire. **(Wikipédia, 2020)**

Conclusion

La brucellose est principalement une maladie des bovins, des porcs, des chèvres, des moutons et des chiens. L'infection animale se propage aux humains par contact direct avec des articles contaminés, comme après la naissance ou l'ingestion indirecte de produits animaux et l'inhalation d'agents en suspension dans l'air. La principale cause d'infection chez l'homme est l'ingestion de lait cru et de fromage à base de lait cru (fromage frais). Les fromages de brebis et de chèvre constituent l'essentiel des nouveaux fromages. En plus de cela, elle est connue comme une maladie professionnelle pour les personnes employées dans le secteur de l'élevage. La transmission entre humains est très rare.

La régulation et l'élimination de l'infection chez les animaux est l'approche la plus raisonnable pour éviter la brucellose humaine. Un autre facteur défensif est la pasteurisation du lait. La vaccination des bovins est recommandée dans les zones enzootiques à taux de prévalence élevé pour gérer la brucellose bovine. Il en va de même pour la brucellose chez les chèvres et les moutons. Dans les régions à faible prévalence, l'éradication par la surveillance et l'abattage est le moyen d'éradiquer la brucellose.

Références bibliographiques :

- **ACHA J.N., SZYFRES B.** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Health, 1^{ère} édition, Washington, 1980, 8-26.
- **AHL R.** Brucellosis in sheep and goats (*Brucella melitensis*). Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare of the UE, SANCO.C.2/AH/R23, 2001, 89.
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (2015). Avis de l'Anses du 31 octobre 2012 relative à la survie de *Brucella* dans les produits laitiers.
<https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/BIORISK2012sa0115.pdf>
- **ALONSO J.M., BERCOVIER H.** Premiers isollements en France de *Yersinia enterocolitica* chez des micromammifères sauvages. Méd. Mal. Infect., 1975,5, 180-181.
- **ANDRIAMBOLOLONA L.** Le diagnostic des brucelloses humaines au laboratoire; le point vétérinaire, 1977, Vol. 5, 14-16.
- **ANONYME R.** Animaux de rente : risque sanitaire pour l'homme.
La Dépêche Vétérinaire, 1988, supplément technique n°3, 3.
- **ANONYME R.** Code zoo sanitaire international, mammifère, oiseaux et abeilles, OIE Eds., sixième édition, 1992, 201-206.
- **AUBRY P.** Brucellose ou fièvre de Malte. Med. Trop., 19
- **BENET LI., SANAA M., DUFOUR B., TOMA B.** Méthodologie des enquêtes en épidémiologie animale. Epidémiol. Santé anim. 1994, 25, 1- 44.
- **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., 2001, 20 (3), 757-767.
- **B Garin-Bastuji** - researchgate.net.
 - 1.
- **BRICKER B.J., HALLING S.M.** Differentiation of *Brucella abortus* 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella Suis* I by PCR. J. Clin. Microbiol, 1994, 32, 2660-2666.
-bruc anses.pfd
- **Catalogue of Life** : *Brucella abortus* (Schmidt, 1901) Meyer & Shaw, 1920 (Nom accepté: *Brucella melitensis* (Hughes, 1893) Meyer & Shaw, 1920 emend. Verger & al, 1985) **Non Valide** [archive] (consulté le 12 mai 2018)

- **Cutler SJ**, Whatmore AM, *et al.* (2005). "Brucellosis-new aspects of an old disease." J Appl Microbiol. 98: 1270-81.
- CORBEL M.J.** Recent advances in the study of *Brucella* antigens and their serological cross-reactions. Vet. Bull, 1985, 55, 927 - 942
- **DUBRAY G.** Etude ultra structurale des bactéries de colonies lisses (S) et rugueuses (R) du genre (*brucella*). Ann. Inst. Pasteur, 1972; 123, 171-193.
- **DUBRAY G.** Le peptidoglycane de la *Brucella* mise en évidence d'une structure à triple feuillet, C.R. Acad. Sci. Paris, 1973, 277.
- **DUFÉY J.** Le dépistage confronté aux réalités du terrain. Ana. Méd.Vét, 1992, 136, 281-283.
- **EBADI A., ZOWGHI E.** The use of allergic test in the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep.J. Br. Vet. 1983, 139, 456- 461
- **ÉBERLIN T.** Les infections microbiennes, Tome1, édition Nathan, Paris.1997, 32.
- **EFSA/ECDC** The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012 (en cours de validation – cf. <http://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/zoonoticdiseases.htm>)
- ELBERG S.** Rev 1 *Brucella melitensis* vaccine. Vet. Bull., 1996, 66,1193-1200.
- **ELOIT M.** Les prélèvements dans le cadre des maladies légalement réputées contagieuses. Rec. Méd. Vét., 1983, 915- 927.
- **FENSTERBANK R.** Allergies diagnosis of Brucellosis. In: *Brucella melitensis* (M Plommet, JM Verger, eds). Dordrecht, 1985, 167-172.
- **FENSTERBANK R., PARDON P.** Diagnostic allergique de la brucellose bovine - Conditions d'utilisation d'un allergène protéique purifié: la brucelline. Rec. Vét., 1977,8, 187-193.
- **FERRON A.** *Brucella*. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 11^{ème} édition, 1982, 391-397.
- **FLANDROIS J.P.** Bactériologie médicale, Flandrois Eds., Presses Universitaires de Lyon. Collection Azay, 1997, 219-224.
- **Guide thématique** brucellose [archive] à l'Université de Navarre [archive]
- **I Lopez-Goni** et D O'Callaghan (editor), *Brucella : Molecular Microbiology and Genomics*, Caister Academic Press, 2012, 261 p. (ISBN 978-1-904455-93-6)
- **ITIS : *Brucella melitensis*** (Hughes, 1893) Meyer & Shaw, 1920 emend. Verger & al., 1985 [archive] (+ version anglaise [archive]) (consulté le 14 mai 2018)
- **KJ Ryan** et **CG Ray** (editors), *Sherris Médical Microbiology*, McGraw Hill, 2004, 4^e éd. (ISBN 0-8385-8529-9)

- **MEINERSHAGEN W.** *Brucella ovis* as a cause of abortion in sheep an. J.Vet, 1994, 23- 35.
- **NCBI** : *Brucella abortus* "Bacillus of abortion" Bang 1897 [archive] (consulté le 12 mai 2018)
- **NCBI** : *Brucella melitensis* "Micrococcus melitensis" (Hughes 1893) Bruce 1893 [archive] (consulté le 14 mai 2018)
- **NICOLLE, P.; MOLLARET, H.; BARAULT, J.** Fréquences variées de la lysogénie et des lysotypes suivant les origines zoologiques et géographiques des souches de *Yersinia enterocolitica*. Bull. Acad. Méd., 1972. 156, 712-721.
- **OIE (Office international des epizooties)**. Caprine and ovine brucellosis (excluding *Brucella ovis* infection). In Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 4e edition. Chapitre 2.4.2. OIE, Paris, 2000.475-489.
- **(PDF)** Diagnostic de la Brucellose bovine – ResearchGate.
- **PERCY DU SERT, A.; GAUTHIER, D., LECOINTRE, O.** – Diagnostic sérologique de Brucellose bovine : Evaluation comparative d'une méthode d'une méthode ELISA et des méthodes. Revue Méd. Vet. , 1998, 2, 149, 161,168.
- PHILIPPON A.** Identification de *Brucella abortus* : métabolisme oxydative et biotypes. Ann. Inst. Pasteur, 1968, 115, 367-377.
- **ROUX J.** la vaccination dans les brucelloses humaines et animales. Bull. de l'institut Pasteur, 1972, 56.

- **TRAP D., Gaumont R.** Le diagnostic sérologique de la brucellose bovine et ovine par l'épreuve à l'antigène tamponné. Dey Biol. Stand, 1975, 31, 136-140.
- uBio** : *Brucella abortus* (Schmidt) Meyer & Shaw 1920 [archive] (consulté le 12 mai 2018)

- **uBio** : *Brucella melitensis* (Hughes) Meyer & Shaw 1920 [archive] (consulté le 14 mai 2018)
- **VALETTE L.** Etude de différents vaccins antibrucellique employés chez le mouton. Institut Mérieux – France- 1987, 10.
- **VERGER J.M.,** - La brucellose bovine à *Brucella melitensis* en France. Ann. Rech. Vét., 1989,20, 93-102-
- **www.123bio.net- Cours - Bactéries pathogènes pour l'homme - *Brucella melitensis, abortus, suis, canis*)**
- www.bio-rad.com.
- file:///C:/Users/MY%20PC/Downloads/31775_1651-1651-annexe2-ps.pdf

- <http://www.bacterio.net/b/brucella.html> [archive]
- <https://monvet.com/fr/fiche-informative/433/brucellose>
- <http://di.univ-blida.dz:8080/xmlui/handle/123456789/3060>
- <https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE40-art10.pdf>
- <https://wagwalking.com/horse/condition/brucellosis>
- https://www.eurofin_biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/BRUCELLA.pdf
- <https://www.lab-cerba.com/files/live/sites/Cerba/files/documents/FR/0127F.p>
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:BrucellaMelitensis.jpg>
- <http://anne.decoster.free.fr/bindex.html> Mise à jour : 09/11/2006 Dr Eric Dehecq, Pr. Marc Duhamel.

