

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES  
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME

*LA REPONSE IMMUNITAIRE ET LA DUREE DE VIE  
DES ANTICORPS APRES VACCINATION CONTRE LA  
BRUCELLOSE CHEZ LES PETITS RUMINANTS  
DURANT LES ANNEES 2010, 2011 ET 2012  
RÉGION D'ELBEYADH*

PRESENTE PAR:

M<sup>LLE</sup>: MEBAREKI KHADIDJA

M<sup>LLE</sup>: SAIBI KHADIDJA

ENCADRE PAR:

D<sup>R</sup> AKERMI AMAR



ANNEE UNIVERSITAIRE  
2012-2013

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord nous remercions notre Dieu le tout puissant qui nous a donné la force d'accomplir ce travail, et notre grand salut à notre premier éducateur « le prophète Mohamed » que Dieu le salut.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude aux nombreuses personnes dont les efforts conjugués ont permis la préparation de ce projet de fin d'étude.*

*Nous voudrions remercier tout particulièrement :*

*Mr. AKERMI Amar, pour avoir accepté de nous encadrer afin de réaliser notre mémoire de fin d'études et pour sa disponibilité et son orientation et ces conseils.*

*Nous remercions également Mr. MEBARKI Mansour, et son fils Ahmed Abd El-Moemin, ainsi Mr REGAGBA Eddine et son épouse Mm. Meriem directrice de l'établissement de la santé publique, qui nous ont beaucoup aidé et encouragé pour la réalisation de ce travail.*

*Sans oublier les docteurs vétérinaires Dr ABD Allah, Yahia Cherrif Ahmed, Notre amie Dr Cherif Abd El-hak et les personnels de l'EPSP de Brezina.*

*Nos remerciements adressés au chef de département et à tous les enseignants et les travailleurs de l'institut des sciences vétérinaires sans exception.*

*Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Et enfin nous ne saurions oublier de remercier nos amis qui nous ont encouragés.*

**MERCI A TOUS...**

# DEDICACE

*Louanges à Allah, maître de l'univers.  
Paix et salut sur notre prophète Mohamed.*

*A mes parents*

*L'offre ce travail, résultats de mes efforts et fruits de votre éducation.  
A toi ma chère mère, source du plus précieux soutien, pour ta douceur,  
Ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma  
Reconnaissance ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi*

*Depuis ma naissance.*

*A toi papa, mon diadème pour le respect de mon choix.*

*A mes chère frère : Boualeme et sa femme, Benalia et sa femme, Belkacem et sa femme,  
Rabie et sa femme, Mustapha et sa femme, et mon petit frère Mohamed Nour El ddine*

*A mes nièces : Nour El houda , Inass, Ghizlaine.*

*A mes enfants : Kamel, Kadi, Abed El rezzak*

*A mon fiancé et sa famille*

*A mon binôme Khadidja*

*A mes meilleurs amis : Iman, Radjae, Rafaf, Kheira, Noura,  
a toute la famille sans exception : Saibi, Tegggar*

*A tous ceux que j'aime.*

**Saibi Khadidja**

# DEDICACE

*Je commence par rendre grâce à **DIEU** et à sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.*

*C'est grâce à **ALLAH**, à Lui Seul la louange, que nous avons pu finir ce travail; et je tiens fermement à signaler que cette aventure nous a permis d'acquérir énormément de connaissances que l'amphithéâtre ne nous les a pas appris.*

*Comme je saisis cette occasion avec tout mon amour éternel avec l'intensité de mes émotions pour dédier cette œuvre à mes parents. Je n'oublie pas ses sacrifices: l'amour qui m'a donné Pour leur encouragement, les conseils qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études: je vous souhaite la joie et de bonne santé.*

*A toi ma chère mère **FATIMA**, mon paradis et ma lumière de vie, ma raison de vivre et la source de mes inspirations.*

*A toi mon affectueux, et honorable père **MANSSEOUR**, ma fierté, ma force et ma gloire.*

*A toi la fleur de notre maison ma seule sœur **OUM KELTOUM**, ma main droite, qui m'a donné le courage, l'espoir et l'amour. Je vous souhaite une bonne santé, une vie pleine de Plaisir et de réussite ainsi son marie.*

*A toi mes frères **MOHEMED, AHMED ET RAZOUK**, mon honneur et ma dignité.*

*A ma deuxième famille à Tiaret : **BEGHADID**, pour le soutien et la tendresse.*

*A toute la famille **MEBARKI** et **REGAGBA**.*

*Tous les membres de ma grande famille maternelle et paternelle et mes alliés.*

*A mon bénome khadidja.*

*Mes amies **AICHA, SABAH, AMEL, RACHIDA, FATIMA, RACHA, KHADIDJA, MOUNA, NAIMA, MIMOUNA HALIMA, DJAMILA, KHEIRA**, Je vous souhaite une vie prospère, pleine d'amour et de joie, que la vie ne puisse jamais nous séparer.*

*Ainsi que tous mes amis de la promotion **2012-2013**, Et de l'université de Tiaret.*

*Tous les enseignants de l'institut des **sciences vétérinaires de Tiaret** sans exception*

**Mebarki Khadidja**

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFSSA	: Agence française de la sécurité sanitaire des aliments
BBATS	: Buffered brucella antigen tests
Cc	: Centimetre cube
CP	: Caprin
EAT	: Epreuve a l'antigène tamponne
ECA	: Epreuve cutanee allergique
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
EPSP	: Etablissement publics de la santé de proximité
F.C:	Fixation de complement
IGG	: Immunoglobulines g
IGM	: Immunoglobuline m
INRA	: Institut national des recherches agronomiques
IVW	: Inspection vétérinaire la wilaya
LPS-S	: lipopolysaccharides- smooth
OIE	: Office internationale des epizootie
OMS	: Organisation mondiale de la sante
OV	: Ovin
OVF	: Office vétérinaire fédérale
PG	: Peptidoglycane
RB	: Rose bengale
RSFP	: Réactions sérologiques faussement positives
U.E.	: Union européenne

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Nomenclature de l'espèce Brucella.....	01
Tableau 02 : Classification de HUDDLESON (1943).....	07
Tableau 03 : Survie des brucelles dans l'environnement.....	08
Tableau 04 : Brucellose humaine dans le monde, 500.000 nouveaux cas annuels .....	14
Tableau 05 : Situation de Brucellose des petits ruminants au niveau du bassin méditerranéen. ....	14
Tableau 06 : Evolution de l'indemnisation des éleveurs en matière de Brucellose bovine et caprine .....	18
Tableau 07 : Conduite de diagnostic biologique aux divers stades de la maladie .....	41
Tableau 08 : Anticorps détectés par les tests sérologiques.....	43
Tableau 09 : Activité des principaux antibiotiques.....	45
Tableau 10 : Propositions thérapeutiques .....	45
Tableau 11 : Stratégie de contrôle de la brucellose en fonction de la situation épidémiologique ..	47
Tableau 12 : Prélèvements effectués au niveau d'El-Bayad. ....	57

## LISTE DES FIGURES

Figure 01	: <i>Brucella melitensis</i> .....	03
Figure 02	: Paroi d'une bactérie à Gram négatif .....	03
Figure 03	: Répartition de antigène M et A de <i>Brucella Mélitensis</i> .....	06
Figure 04	: Représentation schématique du cycle zoonotique de la brucellose des ruminants. ....	10
Figure 05	: Statut des pays et principaux réservoirs de brucellose par zone géographique en Asie, en Océanie et en Afrique.....	13
Figure 06	: Évolution du dépistage de l'espèce caprine de 1995 à 2007 .....	15
Figure 07	: Évolution des foyers de Brucellose caprine de 1998 à 2007 .....	15
Figure 08	: Evolution du taux d'infection de la Brucellose caprine depuis 1996 à 2007.....	16
Figure 09	: Incidence de la Brucellose années 1990- 2001. ....	17
Figure 10	: Évolution des cas de Brucellose Humaine (1995-2007) .....	17
Figure 11	: Evolution mensuelle du nombre de cas humains par rapport aux cas caprins et bovins (2005).....	18
Figure 12	: Chemin emprunté par les brucelles pour gagner les organes cibles .....	20
Figure 13	: Multiplication intra-macrophagique de <i>Brucella</i> .(Microscopie électronique, 48h d'infection cellulaire) .....	21
Figure 14	: Trafic intracellulaire classique/ Trafic intracellulaire de <i>Brucella</i> sp (8) .....	24
Figure 15	: Activation cellulaire des <i>Brucella</i> ( Euzeby J.P. 2004).Pathogénie des endotoxines ....	25
Figure 16	: Réponse immunitaire induite par Rev.1 chez les mâle et femelles (vacciné à 3-4 MOIS) .....	30
Figure 17	: Excrétion nasale et oculaire du Rev 1après la vaccination conjonctivale .....	31
Figure 18	: Excrétion nasale et oculaire du Rev 1après la vaccination conjonctivale .....	31
Figure 19	: Biosynthèse du S-LPS: complexe et plusieurs gènes impliqués (au moins 5 routes) ...	33
Figure 20	: Rétention placentaire chez les ovins.....	35
Figure 21	: Les IgM dans la brucellose aigue .....	42
Figure 22	: Elévation du taux des IgM durant la brucellose aigue .....	42
Figure 23	: Persistance des IgG .....	43
Figure 24	: Situation de la zone d'étude. ....	56
Figure 25	: Carte administrative de la commune d'El-Bayad et ces environnements .....	56
Figure 26	: Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces (ovines et caprines) pendant les années 2010,2011 et 2012.....	61
Figure 27	: Effet de l'espèce.....	62
Figure 28	: Effet de temps .....	63
Figure 29	: Effet de sexe.....	64
Figure 30	: Effet de l'âge .....	65

## LISTE DES PHOTOS

Photo 01 : Culture des espèces de Brucella.....	38
Photo 02 : Epreuve à l'antigène tamponné (le Rose Bengale).....	40
Photo 03 : Tubes contenant du sang prélevé de la veine jugulaire des animaux vaccinés par Rev1..	58
Photo 04 : Antigène avec le sérum.....	59
Photo 05 : Mélange de l'antigène avec le sérum.....	60
Photo 06 : Epreuve a l'antigène tamponnée. ....	60
Photo 07 : Echantillon des résultats obtenus après la réalisation de test RB. ....	60

# SOMMAIRE

## INTRODUCTION ET HISTORIQUE

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

## CHAPITRE I : ETUDE DE LA MALADIE.

I.1. Définition : .....	01
I.2. Etiologie : .....	01
a. Agent pathogène :	
b. Taxonomie de l'espèce Brucella : .....	01
I.2.1. Caractères bactériologiques : .....	02
I.2.1.1. Morphologie : .....	02
I.2.1.2. Structure .....	03
I.2.2. Caractères culturels : .....	07
I.2.3. Caractères biochimiques. ....	07
I.2.4. Caractères biologiques .....	07
I.2.5. Résistance aux agents physico-chimiques : .....	08
I.2.6. Pouvoir pathogène .....	08
I.2.6.1. Chez l'animal (ovin et caprin) : .....	08
I.2.6.2. Chez l'homme : .....	09
a. Sources de contagion : .....	09
b. Modes de transmission .....	09
- Transmission verticale .....	09
- Transmission horizontale .....	10
c. Voies de pénétration : .....	10
d. Facteurs de sensibilité et de réceptivité : .....	10

## CHAPITRE II: ÉPIDEMIOLOGIE

II.1. Importance : .....	11
II.2. Epidémiologie synthétique : .....	11
II.2.1. La situation mondiale de la brucellose humaine : .....	11
II.2.2. La situation mondiale de la brucellose caprine et ovine : .....	12
II.2.3. Répartition géographique : .....	12
.....	
II.2.3.1. Dans le monde .....	13
II.2.3.2. Dans le bassin méditerranéen : .....	14
II.2.3.3. En Algérie : .....	15
II.2.4. Risques professionnels (Salim D., 2008) .....	19

## CHAPITRE III. PHYSIOLOGIE ET IMMUNITE

III.1. Physiopathologie .....	20
III.1.1. Activation de molécules circulantes .....	22
III.1.2. Activation cellulaire .....	22
III.2. Immunité : .....	26
III.2.1. La réponse immunitaire : .....	26
III.2.2. Isotypes d'immunoglobulines anti-brucella : .....	26
III.2.2.1. Isotypes bovins : .....	26
III.2.2.2. Isotypes dans d'autres espèces. (OIE, 2009) .....	28
III.2.3. Spécificité antigénique des anticorps anti-brucella : .....	28
III.2.4. Immunité à médiation cellulaire à l'égard de brucella .....	28
III.2.5. Vaccins .....	29
III.2.6. Avantage de la vaccination des adultes .....	31
III.2.7. Inconvénient du vaccin Rev1 chez les adultes .....	32

## CHAPITRE IV. PHYSIOLOGIE ET IMMUNITE

IV.1. Chez les ovins et les caprins : .....	34
IV.2. Chez l'homme .....	35

## CHAPITRE V. DIAGNOSTIC

1. Diagnostic non spécifique : .....	38
V.2. Diagnostic spécifique .....	38
V.2.1. Identification de l'agent pathogène (isolement des brucelles par cultures) : .....	38
V.2.2.1 La mise en évidence du germe : .....	38
V.2.2. Épreuves .....	39
V.2.2.1. Le rose Bengale et la réaction de fixation du complément : .....	39
V.2.2.2. Test de Wright (Séro-agglutination) .....	40
V.2.2.3. L'immunofluorescence indirect : .....	40
V.2.2.4. ELISA : .....	41
V.2.2.5. Action des tests sérologique en fonctions des stades de la brucellose : .....	42
V.2.2.6. Les anticorps détectés par les tests sérologiques : .....	43
V.2.2.7. Épreuve cutanée allergique à la brucelline .....	43
V.2.2.7.1. Protocole .....	44

## CHAPITRE VI. PROPHYLAXIE

VI.1. Traitement : .....	45
VI.1.1. Traitement curatif : .....	45

VI.2. Prophylaxie .....	46
VI.2.1. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants .....	47
VI.2.2. Prophylaxie sanitaire :.....	48
VI.2.3. Prophylaxie médicale:.....	49
VI.2.4. Prophylaxie mixte: .....	50
VI.2.5. Mesures générales:.....	51
VI.2.5.1. Prophylaxie chez l'homme : .....	51
VI.2.5.2. Education sanitaire ET formation: .....	51
VI.6. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants en Algérie : .....	53
VI.6.1. Definition ET Réglementation : .....	53
VI.6.2. Prophylaxie médicale:.....	53
VI.6.2.1. Programme de vaccination (2006): .....	53
VI.6.2.2. Contraintes rencontrées:.....	54
VI.6.3. Mesure de lutte contre la Brucellose humaine et animale :.....	54

## ETUDE EXPERIMENTALE.

### CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Conditions expérimentales :.....	55
I.2. Matériel et méthodes :.....	57
I.2.1. Matériel : .....	57
I.2.2. Méthode : .....	58
I.2.2.1. Prélèvements sanguins : .....	58
I.2.2.2. Mode opératoire :.....	59

### CHAPITRE II. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.

II.1. Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces .....	61
II.1.2. Effet de l'espèce : .....	62
II.1.3. Effet de temps .....	63
II.1.4. Effet de sexe .....	64
II.1.5. Effet de l'âge : .....	65

#### CONCLUSION GENERALE

#### Références bibliographiques

#### Annexes

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord nous remercions notre Dieu le tout puissant qui nous a donné la force d'accomplir ce travail, et notre grand salut à notre premier éducateur « le prophète Mohamed » que Dieu le salut.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude aux nombreuses personnes dont les efforts conjugués ont permis la préparation de ce projet de fin d'étude.*

*Nous voudrions remercier tout particulièrement :*

*Mr. AKERMI Amar, pour avoir accepté de nous encadrer afin de réaliser notre mémoire de fin d'études et pour sa disponibilité et son orientation et ces conseils.*

*Nous remercions également Mr. MEBARKI Mansour, et son fils Ahmed Abd El-Moemin, ainsi Mr REGAGBA Eddine et son épouse Mm. Meriem directrice de l'établissement de la santé publique, qui nous ont beaucoup aidé et encouragé pour la réalisation de ce travail.*

*Sans oublier les docteurs vétérinaires Dr ABD Allah, Yahia Cherrif Ahmed, Notre amie Dr Cherif Abd El-hak et les personnels de l'EPSP de Brezina.*

*Nos remerciements adressés au chef de département et à tous les enseignants et les travailleurs de l'institut des sciences vétérinaires sans exception.*

*Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Et enfin nous ne saurions oublier de remercier nos amis qui nous ont encouragés.*

**MERCI A TOUS...**

# DEDICACE

*Louanges à Allah, maitre de l'univers.  
Paix et salut sur notre prophète Mohamed.*

*A mes parents*

*L'offre ce travail, résultats de mes efforts et fruits de votre éducation.  
A toi ma chère mère, source du plus précieux soutien, pour ta douceur,  
Ta bonté et ta précieuse tendresse, je te témoigne respectueusement ma  
Reconnaissance ma gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi  
Depuis ma naissance.*

*A toi papa, mon diadème pour le respect de mon choix.*

*A mes chère frère : Boualeme et sa femme, Benalia et sa femme, Belkacem et sa femme,  
Rabie et sa femme, Mustapha et sa femme, et mon petit frère Mohamed Nour El ddine*

*A mes nièces : Nour El houda , Inass, Ghizlaine.*

*A mes enfants : Kamel, Kadi, Abed El rezzak*

*A mon fiance et sa famille*

*A mon binôme Khadidja*

*A mes meilleurs amies : Iman, Radjae, Rafaf, Kheira, Noura,  
a toute la famille sans exception : Saibi, Teggarr*

*A tous ceux que j'aime.*

*Saibi Khadidja*

# DEDICACE

*Je commence par rendre grâce à **DIEU** et à sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.*

*C'est grâce à **ALLAH**, à Lui Seul la louange, que nous avons pu finir ce travail; et je tiens fermement à signaler que cette aventure nous a permis d'acquérir énormément de connaissances que l'amphithéâtre ne nous les a pas appris.*

*Comme je saisis cette occasion avec tout mon amour éternel avec l'intensité de mes émotions pour dédier cette œuvre à mes parents. Je n'oublie pas ses sacrifices: l'amour qui m'a donné. Pour leur encouragement, les conseils qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études: je vous souhaite la joie et de bonne santé.*

*A toi ma chère mère **FATIMA**, mon paradis et ma lumière de vie, ma raison de vivre et la source de mes inspirations.*

*A toi mon affectueux, et honorable père **MANSSEOUR**, ma fierté, ma force et ma gloire.*

*A toi la fleur de notre maison ma seule sœur **OUM KELTOUM**, ma main droite, qui m'a donné le courage, l'espoir et l'amour. Je vous souhaite une bonne santé, une vie pleine de plaisir et de réussite ainsi son mari.*

*A toi mes frères **MOHEMED, AHMED ET RAZOUK**, mon honneur et ma dignité.*

*A ma deuxième famille à Tiaret : **BEGHADID**, pour le soutien et la tendresse.*

*A toute la famille **MEBARKI** et **REGAGBA**.*

*Tous les membres de ma grande famille maternelle et paternelle et mes alliés.*

*A mon bénome khadidja.*

*Mes amies **AICHA, SABAH, AMEL, RACHIDA, FATIMA, RACHA, KHADIDJA, MOUNA, NAIMA, MIMOUNA HALIMA, DJAMILA, KHEIRA**, Je vous souhaite une vie prospère, pleine d'amour et de joie, que la vie ne puisse jamais nous séparer.*

*Ainsi que tous mes amis de la promotion **2012-2013**, Et de l'université de Tiaret.  
Tous les enseignants de l'institut des **sciences vétérinaires de Tiaret** sans exception*

**Mebarki Khadidja**

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Nomenclature de l'espèce Brucella.....	01
Tableau 02 : Classification de HUDDLESON (1943).....	07
Tableau 03 : Survie des brucelles dans l'environnement.....	08
Tableau 04 : Brucellose humaine dans le monde, 500.000 nouveaux cas annuels .....	14
Tableau 05 : Situation de Brucellose des petits ruminants au niveau du bassin méditerranéen. ....	14
Tableau 06 : Evolution de l'indemnisation des éleveurs en matière de Brucellose bovine et caprine .....	18
Tableau 07 : Conduite de diagnostic biologique aux divers stades de la maladie .....	41
Tableau 08 : Anticorps détectés par les tests sérologiques.....	43
Tableau 09 : Activité des principaux antibiotiques.....	45
Tableau 10 : Propositions thérapeutiques .....	45
Tableau 11 : Stratégie de contrôle de la brucellose en fonction de la situation épidémiologique ..	47
Tableau 12 : Prélèvements effectués au niveau d'El-Bayad. ....	57

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AFSSA	: Agence française de la sécurité sanitaire des aliments
BBATS	: Buffered brucella antigen tests
Cc	: Centimetre cube
CP	: Caprin
EAT	: Epreuve a l'antigène tamponne
ECA	: Epreuve cutanee allergique
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
EPSP	: Etablissement publics de la santé de proximité
F.C:	Fixation de complement
IGG	: Immunoglobulines g
IGM	: Immunoglobuline m
INRA	: Institut national des recherches agronomiques
IVW	: Inspection vétérinaire la wilaya
LPS-S	: lipopolysaccharides- smooth
OIE	: Office internationale des epizootie
OMS	: Organisation mondiale de la sante
OV	: Ovin
OVF	: Office vétérinaire fédérale
PG	: Peptidoglycane
RB	: Rose bengale
RSFP	: Réactions sérologiques faussement positives
U.E.	: Union européenne

## LISTE DES FIGURES

Figure 01	: Brucella melitensis .....	03
Figure 02	: Paroi d'une bactérie à Gram négatif .....	03
Figure 03	: Répartition de antigène M et A de Brucella Mélitensis.....	06
Figure 04	: Représentation schématique du cycle zoonotique de la brucellose des ruminants. ....	10
Figure 05	: Statut des pays et principaux réservoirs de brucellose par zone géographique en Asie, en Océanie et en Afrique.....	13
Figure 06	: Évolution du dépistage de l'espèce caprine de 1995 à 2007 .....	15
Figure 07	: Évolution des foyers de Brucellose caprine de 1998 à 2007 .....	15
Figure 08	: Evolution du taux d'infection de la Brucellose caprine depuis 1996 à 2007.....	16
Figure 09	: Incidence de la Brucellose années 1990- 2001. ....	17
Figure 10	: Évolution des cas de Brucellose Humaine (1995-2007) .....	17
Figure 11	: Evolution mensuelle du nombre de cas humains par rapport aux cas caprins et bovins (2005).....	18
Figure 12	: Chemin emprunté par les brucelles pour gagner les organes cibles .....	20
Figure 13	: Multiplication intra-macrophagique de Brucella.(Microscopie électronique, 48h d'infection cellulaire) .....	21
Figure 14	: Trafic intracellulaire classique/ Trafic intracellulaire de Brucella sp (8) .....	24
Figure 15	: Activation cellulaire des Brucella ( Euzeby J.P. 2004).Pathogénie des endotoxines ....	25
Figure 16	: Réponse immunitaire induite par Rev.1 chez les mâle et femelles (vacciné à 3-4 MOIS) .....	30
Figure 17	: Excrétion nasale et oculaire du Rev 1après la vaccination conjonctivale .....	31
Figure 18	: Excrétion nasale et oculaire du Rev 1après la vaccination conjonctivale .....	31
Figure 19	: Biosynthèse du S-LPS: complexe et plusieurs gènes impliqués (au moins 5 routes) ...	33
Figure 20	: Rétention placentaire chez les ovins.....	35
Figure 21	: Les IgM dans la brucellose aigue .....	42
Figure 22	: Elévation du taux des IgM durant la brucellose aigue .....	42
Figure 23	: Persistance des IgG .....	43
Figure 24	: Situation de la zone d'étude. ....	56
Figure 25	: Carte administrative de la commune d'El-Bayad et ces environnements .....	56
Figure 26	: Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces (ovines et caprines) pendant les années 2010,2011 et 2012.....	61
Figure 27	: Effet de l'espèce.....	62
Figure 28	: Effet de temps .....	63
Figure 29	: Effet de sexe.....	64
Figure 30	: Effet de l'âge .....	65

## LISTE DES PHOTOS

Photo 01 : Culture des espèces de Brucella.....	38
Photo 02 : Epreuve à l'antigène tamponné (le Rose Bengale).....	40
Photo 03 : Tubes contenant du sang prélevé de la veine jugulaire des animaux vaccinés par Rev1 ..	58
Photo 04 : Antigène avec le sérum.....	59
Photo 05 : Mélange de l'antigène avec le sérum.....	60
Photo 06 : Epreuve a l'antigène tamponnée. ....	60
Photo 07 : Echantillon des résultats obtenus après la réalisation de test RB. ....	60

# SOMMAIRE

## INTRODUCTION ET HISTORIQUE

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

#### CHAPITRE I : Etude de la maladie.

I.1. Définition : .....	01
I.2. Etiologie : .....	01
a. Agent pathogène : .....	01
b. Taxonomie de l'espèce <i>Brucella</i> : .....	01
I.2.1. Caractères bactériologiques : .....	02
I.2.1.1. Morphologie : .....	02
I.2.1.2. Structure .....	03
I.2.2. Caractères culturels : .....	07
I.2.3. Caractères biochimiques. ....	07
I.2.4. Caractères biologiques .....	07
I.2.5. Résistance aux agents physico-chimiques : .....	08
I.2.6. Pouvoir pathogène .....	08
I.2.6.1. Chez l'animal (ovin et caprin) : .....	08
I.2.6.2. Chez l'homme : .....	09
a. Sources de contagion : .....	09
b. Modes de transmission .....	09
- <i>Transmission verticale</i> .....	09
- <i>Transmission horizontale</i> .....	10
c. Voies de pénétration : .....	10
d. Facteurs de sensibilité et de réceptivité : .....	10

#### CHAPITRE II: Épidémiologie

II.1. Importance : .....	11
II.2. Epidémiologie synthétique : .....	11
II.2.1. La situation mondiale de la brucellose humaine : .....	11
II.2.2. La situation mondiale de la brucellose caprine et ovine : .....	12
II.2.3. Répartition géographique : .....	12
II.2.3.1. Dans le monde .....	13
II.2.3.2. Dans le bassin méditerranéen : .....	14
II.2.3.3. En Algérie : .....	15
II.2.4. Risques professionnels (Salim D., 2008) .....	19

#### CHAPITRE III. Physiologie et immunité

III.1. Physiopathologie .....	20
III.1.1. Activation de molécules circulantes .....	22
III.1.2. Activation cellulaire .....	22
III.2. Immunité : .....	26
III.2.1. La réponse immunitaire :.....	26
III.2.2. Isotypes d'immunoglobulines anti-brucella : .....	26
III.2.2.1. Isotypes bovins :.....	26
III.2.2.2. Isotypes dans d'autres espèces. (OIE, 2009) .....	28
III.2.3. Spécificité antigénique des anticorps anti-brucella : .....	28
III.2.4. Immunité à médiation cellulaire à l'égard de brucella .....	28
III.2.5. Vaccins .....	29
III.2.6. Avantage de la vaccination des adultes .....	31
III.2.7. Inconvénient du vaccin Rev1 chez les adultes .....	32

#### CHAPITRE IV. Physiologie et immunité

IV.1. Chez les ovins et les caprins : .....	34
IV.2. Chez l'homme .....	35

#### CHAPITRE V. Diagnostic

V. 1. Diagnostic non spécifique : .....	38
V.2. Diagnostic spécifique .....	38
V.2.1. Identification de l'agent pathogène (isolement des brucelles par cultures) :.....	38
V.2.2.1 La mise en évidence du germe : .....	38
V.2.2. Épreuves .....	39
V.2.2.1. Le rose Bengale et la réaction de fixation du complément :.....	39
V.2.2.2. Test de Wright (Séro-agglutination).....	40
V.2.2.3. L'immunofluorescence indirect :.....	40
V.2.2.4. ELISA :.....	41
V.2.2.5. Action des tests sérologique en fonctions des stades de la brucellose : .....	42
V.2.2.6. Les anticorps détectés par les tests sérologiques : .....	43
V.2.2.7. Épreuve cutanée allergique à la brucelline .....	43
V.2.2.7.1. Protocole.....	44

#### CHAPITRE VI. Prophylaxie

VI.1. Traitement : .....	45
VI.1.1. Traitement curatif : .....	45
VI.2. Prophylaxie .....	46
VI.2.1. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants .....	47

VI.2.2. Prophylaxie sanitaire : .....	48
VI.2.3. Prophylaxie médicale: .....	49
VI.2.4. Prophylaxie mixte: .....	50
VI.2.5. Mesures générales: .....	51
VI.2.5.1. Prophylaxie chez l'homme : .....	51
VI.2.5.2. Education sanitaire ET formation: .....	51
VI.6. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants en Algérie : .....	53
VI.6.1. Definition ET Réglementation : .....	53
VI.6.2. Prophylaxie médicale: .....	53
VI.6.2.1. Programme de vaccination (2006): .....	53
VI.6.2.2. Contraintes rencontrées: .....	54
VI.6.3. Mesure de lutte contre la Brucellose humaine et animale : .....	54

## ETUDE EXPÉRIMENTALE.

### CHAPITRE I. Matériel et Méthodes

I.1. Conditions expérimentales : .....	55
I.2. Matériel et méthodes : .....	57
I.2.1. Matériel : .....	57
I.2.2. Méthode : .....	58
I.2.2.1. Prélèvements sanguins : .....	58
I.2.2.2. Mode opératoire : .....	59

### Chapitre II. Résultats et discussions.

II.1. Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces .....	61
II.1.2. Effet de l'espèce : .....	62
II.1.3. Effet de temps .....	63
II.1.4. Effet de sexe .....	64
II.1.5. Effet de l'âge : .....	65

## CONCLUSION GENERALE

Références bibliographiques

Annexes

## INTRODUCTION

Si la brucellose des bovin est aujourd'hui en bonne voie d'éradication en Europe, celle des petits ruminants demeure par contre un problème préoccupant dans tous les pays méditerranéens, caprins et ovins sont responsables de 80 de brucellose, essentiellement a *Brucella melitensis* et plus rarement a *brucella abortus bovis*. C'est une zoonose comportant un risque important pour la sante des consommateurs (Ceeon, 1988).

Le manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'organisation mondiale de la sante (oms) classe les brucellas (et particulièrement *B. melitensis*) en groupe iii de risque qui serait responsable de 500 000 nouveaux cas humains par an dans le monde (Gorvel J-P, 2004).

C'est une infection systémique, avec des symptômes initialement non spécifiques, pouvant évoluer vers des complications touchant tous les organes et nécessitant souvent une hospitalisation et un traitement long et astreignant. Certains patients développent une forme chronique qui peut durer plusieurs années l'infection se contracte par la consommation de produits laitiers ou par contact des animaux atteints ; moutons et chèvres, qui sont infectes par la variété *Brucella melitensis*, une des plus dangereuses pour l'homme (invs, 2007). Au niveau des élevages, la brucellose entraine des pertes sévères, en provoquant notamment l'avortement des femelles gravides – et parfois leur stérilité.

Diverses stratégies on été adoptées, séparément ou conjointement pour le contrôle puis l'éradication de cette maladie infectieuse. Il est évident que le choix d'une stratégie dépendra de la prévalence de la maladie ; du contexte socio-économique et de la volonté politique avec un objectif bien défini, qui peut viser soit l'éradication définitive de la maladie dans un pays ou une zone donnée soit, tout simplement, son contrôle a un niveau de prévalence << acceptable>>.

La lutte proposée repose essentiellement sur des méthodes de prophylaxie sanitaire (dépistage et abattage des individus infectes) et médicale (vaccination) (Acha et Szyfres, 1989) le choix de la stratégie de lutte dépend de la prévalence de l'infection et de l'incidence des avortements brucelliques et des moyens dont disposent les autorités sanitaires pour mener a bien ces programmes (Garin-Bastuji B, 1993).

Les vaccins utilisables chez l'animal sont des vaccins vivants attenues développés à partir de souches (*B. melitensis* rev.1) pour les petits ruminants.

Cette souche est actuellement le seul vaccin disponible pour la prophylaxie de la brucellose chez ces espèces (Young EJ, 1995).

Il arrive, par conséquent, à garantir une protection dans plus de 85% des cas. Malgré ce bon score, cette vaccination s'accompagne de deux redoutables inconvénients. D'une part, la souche Rev.1 conserve une certaine pathogénicité résiduelle pour l'animal et pour l'homme (Gorvel J-p, 2004).

Ce qui la rend impropre à la vaccination des animaux gravides et présente un risque potentiel pour l'homme.

D'autre part, la protection acquise entraîne la synthèse d'anticorps qui sont précisément ceux que détectent les tests de diagnostic sérologiques qui se heurtent à l'existence de résultats faux positifs 15. Il est donc impossible de distinguer un animal vacciné d'un animal infecté (Pouillot R, Garin-Bastuji B, Dufour B., 1998).

Notre travail est divisé en deux parties :

- La première partie : c'est l'étude bibliographique de la brucellose, son épidémiologie, et les différents moyens de diagnostic et de lutte qui y sont adaptés.
- Tandis que la deuxième partie traitera l'étude expérimentale.

## HISTORIQUE

La plus ancienne description de la maladie chez l'homme rencontrait à Hippocrate (460-377 avant j-c). Elle était alors considérée comme un processus pathologique humain fébrile, cliniquement difficile à diagnostiquer. (Leon et al, 2003).

- la première description clinique complète a été publiée par Marston, médecin de la marine anglaise à Malte en 1959.

- en 1887, DAVID Bruce, un médecin militaire affecté à Malte, a isolé un micro-organisme de la rate quatre soldats morts de ce qu'on appelait alors « fièvre de Malte ». Il décrit la morphologie du genre isolé et l'appelle *Micrococcus melitensis* d'après l'ancien nom de l'île « Melita ».

- En 1897, Wright mit au point pour le diagnostic de la maladie, une technique de serroagglutination qui porte encore son nom « serroagglutination de Wright » (test de serroagglutination lente en tube (Leon et al, 2003).

- En 1896 en Danemark, Bang a isolé le bacillus abortus suis responsable de l'avortement de truies.

- En 1918, Alice Evans a démontré la parenté de ces différentes genres ; en 1920 Meyer et Shaw les ont regroupés dans le genre Brucella (en hommage à Bruce). En 1922, Barnett a découvert l'intradermoréaction à la mélinite, d'autres espèces seront identifiées par la suite : Brucella ovis en 1953 ; par Buddle et Boyes en Nouvelle-Zélande.

- Depuis en 1966, trois espèces supplémentaires ont été ajoutées au genre Brucella ovis : isolé chez un bélier en 1950 par Macfarlane et ses collaborateurs. Brucella neotomae isolé chez une rate de désert, et Brucella canis isolé chez une chienne en 1968 par Carmichael et Brunner. (Toma, 2001).

Pour la première fois en 1994, l'avortement d'un dauphin en captivité en Californie est attribué à une infection à Brucella (Ewald et al, 1994). Depuis, de nouvelles souches ont été isolées de divers mammifères marins : dauphins, marsouins, phoques (Foster et al; 2002).

Les espèces B. microti est isolée du campagnol (Microtus arvalis) en République tchèque et proposée en 2008 (Hubalek et al, 2007 ; Scholz et al, 2008).

Enfin, l'espèce B. inopinata est isolée et caractérisée en 2009 aux États-Unis (Scholz et al, 2009).

### I.1. Définition :

La brucellose est une maladie infectieuse commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales, provoquée par une bactérie du genre brucella.

De ce, elle est inscrite sur la liste de l'OIE et sur la liste des maladies réputées contagieuses.

Les animaux excrètent par les voies génitales et par le lait beaucoup de la brucellose, très résistantes dans le milieu extérieur. Les femelles malades avortent au cours de la deuxième moitié de la gestation (avortement épizootique). Les femelles infectées qui n'avortent pas sont également très contagieuses, elles excrètent les brucelles au moment de la mise-bas.

L'homme se contamine en consommant des produits laitiers infectés ou en manipulant des animaux infectés à la mise-bas. La brucellose humaine se manifeste par des fièvres intermittentes, des sueurs et des douleurs articulaires.

Les principaux réservoirs d'agents pathogènes sont les chiens (*B. canis*), les porcs (*B. suis*), les bovins (*B. abortus*), ainsi que les moutons et les chèvres (*B. melitensis*). Une nouvelle espèce, *Brucella maris* ou *brucella Delphini*, a été découverte récemment chez les dauphins.

Ces bactéries ont un tropisme génital qui conduit à des avortements. (Godfroid J et al, 2003).

### I.2. Etiologie :

#### a. Agent pathogène :

Les bactéries du genre *Brucella* sont des parasites intracellulaires qui se présentent sous forme de petits bacilles à Gram négatif du groupe alpha-2 des protéobactéries (ENVF, 2004). Elles sont l'agent de la brucellose, une maladie zoonotique qui affecte une grande variété de mammifères, y compris l'homme.

#### b. Taxonomie de l'espèce *Brucella* :

**Tableau 01** : Nomenclature de l'espèce *Brucella* (Lambin et German, 1969).

Embranchement	Shizomycètes
Sous-embranchement	Eubactérie
Ordre	Rhizobiales
Famille	Brucellaceae
Genre	<i>Brucella</i>
Espèces	<i>Bovis</i> <i>Mélitensis</i> <i>Ovis</i> <i>Suis</i> <i>Canis</i> <i>Néotomae</i>

Il existe de réelles différences en termes de préférence d'hôte et d'épidémiologie entre les différentes espèces aussi bien qu'une réelle diversité génomique. Aussi, au plan pratique, convient-on de maintenir la classification des *Brucella* en six espèces classiques *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* et *B. canis*. Les 3 premières sont subdivisées en biotypes sur la base de caractères culturels et sérologiques.

- Trois biotypes de *Brucella melitensis* (1-3) ; c'est l'agent étiologique principal de la brucellose chez les caprins et les ovins.
- Huit biotypes de *Brucella abortus* (1-9), c'est la variété qui infecte les vaches, et elle cause d'une façon caractéristique chez elles l'avortement, lorsqu'il s'agit de leur premier veau (Frobischer et Fuerst, 1975).
- Quatre biotypes de *Brucella suis* ; dans cette dernière espèce, on a proposé un nouveau biotype pour les souches isolées de rongeurs en URSS car il diffère des quatre biotypes déjà reconnus (Acha et Szyfres, 1989).

Ces trois espèces peuvent être lisses ou rugueuses (S-LPS ou R-LPS) (Loeckaert et al, 1996). Il n'existe pas d'espèces animales résistantes à l'infection par *Brucella*, et c'est évidemment la raison de la dispersion mondiale de la maladie. Il n'est pas exceptionnel de rencontrer des bovins infectés par *Brucella melitensis* et des ovins contaminés par *Brucella abortus*. De même, elle a été détectée chez de nombreuses espèces animales sauvages : grands fauves, cervidés, bovidés, rongeurs, oiseaux etc. (Acha et Szyfres, 1989).

### **I.2.1. Caractères bactériologiques :**

#### **I.2.1.1. Morphologie :**

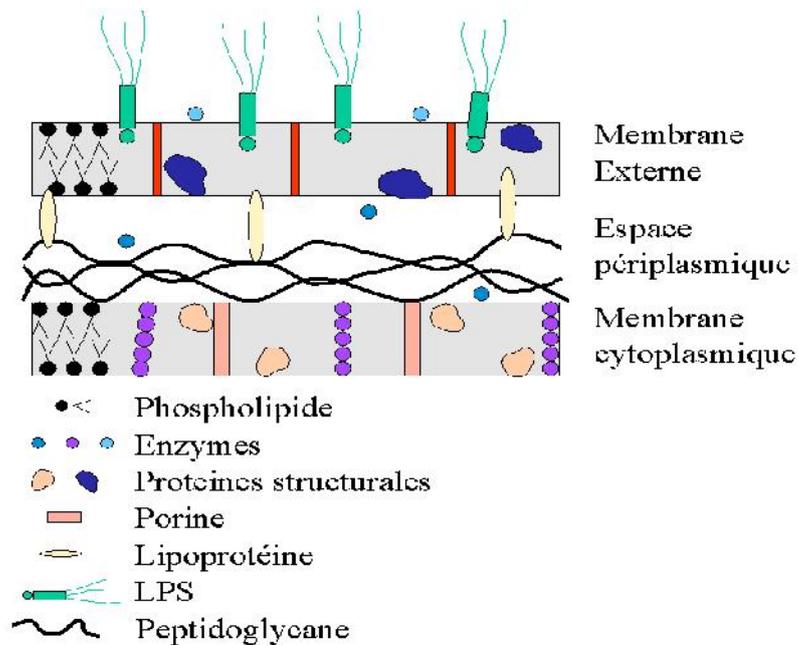
Ce sont de très petits coccobacilles, de 0,6 µm de diamètre et de 1,5 µm de longueur. Elles sont tantôt isolées, tantôt groupées deux par deux en diplocoques, parfois constituent de courtes chaînettes ou de petits amas (LE Guyon, 1960). Gram négatif, immobiles, non sporulés et aérobies stricts. (Flandrois J-P. ,1997) (Voir photo N°I.1).

Il y a lieu de signaler l'intérêt de certaines colorations spéciales notamment, la coloration de STAMP et de COSTER (Obre et Buttiaux, 1983). Les formes de mutation sont entourées de capsules bien nettes, surtout dans les cultures jeunes. La paroi de *Brucella* contient une endotoxine ou lipopolysaccharides (LPS) dont le pouvoir pathogène n'est pas clairement établi (Flandrois J-P ,1997).



**Figure 01:** *Brucella melitensis*: (Centers for Disease Control and Prevention, 2005)

### I.2.1.2. Structure



**Figure 02 :** Paroi d'une bactérie à Gram négatif (Flandrois J-P, 1997)

Des travaux assez nombreux au microscope électronique, notamment ceux de PETRI et coll. (1964) et de DUBRAY (1972), permettent d'avoir une assez bonne connaissance de la structure de ces bactéries (Guyon, 1960).

**a. La paroi :**

La paroi de ces bactéries apparaît hétérogène et on distingue une couche interne et une couche externe, séparées par un espace appelé espace périplasmique (schéma I.1) (ENVF, 2004).

**b. Couche externe (Flandrois ,1997).**

La couche externe est de 90Å, constituée d'une double couche phospholipidique dans laquelle flottent des lipopolysaccharides et des protéines. (Flandrois ,1997) .Les protéines majeures représentant 70%, dont les unes sont reliées aux peptidoglycanes, tandis que les autres se trouvent à l'état libre de la bicouche de la membrane externe (Leclerc, 1983).

Les protéines de membrane externe sont nombreuses, elles peuvent être impliquées dans la virulence ou dans la perméabilité. (FLANDROIS.J-P, 1997)

Certaines protéines de membrane externe sont des récepteurs spécifiques pour les complexes fer-sidérophore et permettent à la bactérie d'acquérir le fer indispensable à sa croissance. (Flandrois ,1997).

Les protéines jouant un rôle dans la perméabilité sont dénommées des porines. Ils sont organisés en trimères et ils délimitent des pores qui traversent la membrane externe de part en part. Elles permettent ainsi le passage de petites molécules (jusqu'à 600 Da) hydrophiles. (Flandrois ,1997).

Les lipopolysaccharides sont des molécules complexes jouant un rôle important dans les propriétés antigéniques (antigène O) et dans le pouvoir pathogène (endotoxine). (12). Ils sont logés dans la membrane externe de la paroi par ces chaînes lipidiques (Pelmont ,1996). Ils sont constitués de trois parties :

***Le lipide A :***

Les lipopolysaccharides (LPS) sont constitués d'un lipide A et d'une partie polysaccharidique débordant la membrane externe. Le lipide A est doué de propriétés toxiques et il correspond à l'endotoxine des bactéries qui n'est libérée, de manière massive, qu'après lyse de la bactérie. Le rôle des endotoxines est très important car elles sont très ubiquistes et aucun organisme n'est à l'abri de leurs effets.

La fraction polysaccharidique constitue l'antigène O et elle est responsable de la spécificité antigénique O permettant de décrire des sérotypes au sein d'une même espèce bactérienne.

**- Structure :**

Le lipide A est constitué de deux sucres aminés liés par une liaison bêta 1-6, phosphorylés et liés à des acides gras hydroxylés sur leur troisième atome de carbone ainsi qu'à un ou deux

autres acides gras non hydroxylés. Le lipide A est responsable du pouvoir toxique du LPS (ENVF, 2004).

#### ***Fraction polysaccharidique :***

La fraction polysaccharidique est constituée d'un noyau (ou core) interne lié au lipide A et d'un noyau (ou core) externe lié à une chaîne polysaccharidique terminale appelée aussi chaîne O spécifique (Leclerc, 1983) (schéma I. 1).

#### ***Core***

La structure du core est semblable pour toutes les souches de brucella, mais dont la composition peut varier sensiblement selon les espèces. La partie polysaccharidique peut être perdue par mutation sans affecter la viabilité de la cellule (Leclerc, 1983)

Le noyau interne contient deux sucres inhabituels, l'heptose et l'acide 3-désoxy-D-manno-2-octulosonique (KDO) (De Boeck et Larcier, 1999). Le KDO est toujours présent dans le LPS. Le noyau ou core externe est constitué d'un nombre variable de résidus d'hexoses ou d'hexosamines. (ENVF, 2004).

La chaîne O spécifique est la partie la plus variable du LPS. Elle est constituée de chaînons répétitifs comprenant chacun 3 à 8 sucres. Le premier de ces chaînons peut avoir une structure légèrement différente de celle des autres chaînons. Les sucres constituant ces chaînons sont des hexoses "classiques" (glucose, galactose, mannose...) mais aussi des sucres plus particuliers comme le tyvélose, le paratose, l'abéquose, le colitose...

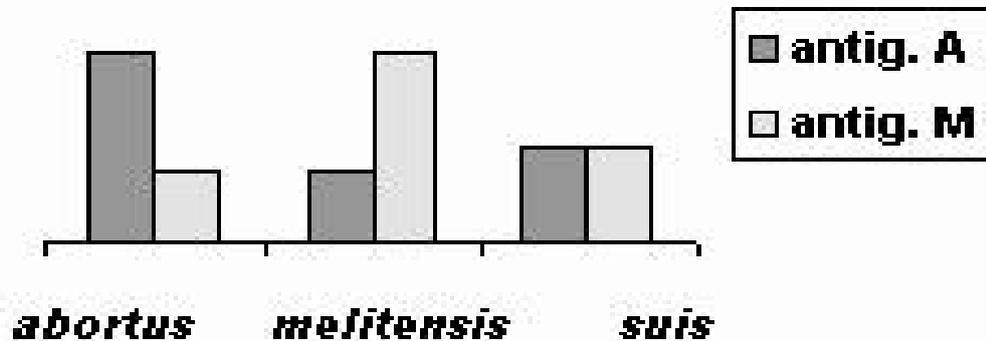
Les différences antigéniques des chaînes spécifiques sont liées soit à la nature des sucres qui composent le chaînon répété soit à leur mode de liaison. La détermination de la spécificité antigénique O est importante notamment en épidémiologie.

Les anticorps anti-O agglutinent les bactéries par leurs parois et l'agglutinat qui se forme est un agglutinat fin, difficile à dissocier.

La spécificité antigénique O peut être perdue plus ou moins totalement par des mutations qui affectent la synthèse ou la fixation des chaînons spécifiques. Les colonies formées par des bactéries dont les antigènes O sont incomplets sont plates, à bords irréguliers et d'aspect rugueux (colonies R ou rugueuse ou rough). Cet aspect contraste avec les colonies rondes et lisses (colonies S ou smooth) obtenues avec les bactéries normales. Les mutants rugueux ont un aspect variable selon la modification engendrée dans la structure polysaccharidique et ils perdent leur pouvoir pathogène car ils sont aisément phagocytés.

Les *Brucella melitensis* possèdent des antigènes de structure lipopolysaccharidique appelés M. Les anticorps anti *Brucella* coagglutinent (ce sont des réactions croisées) *Yersinia*

enterocolitica O:9, Francisella tularensis, Vibrio cholerae et plus rarement Escherichia coli O:157 et certaines Salmonella. Voir figure N I.2 (De Boeck et Larcier, 1999).



**Figure 03** : Répartition de antigène M et A de Brucella Mélitensis

#### - Espace périplasmique

Le système de la double membrane de ces bactéries gram négatifs crée un compartiment appelé espace périplasmique ou périplasme, autour de la membrane cytoplasmique (De Boeck et Larcier, 1999).

L'espace périplasmique contient des lipoprotéines ou lipoprotéines de Braun qui relient la membrane externe au peptidoglycane et qui participent à la cohésion de la paroi. Elles sont constituées d'un polypeptide d'une soixantaine d'acides aminés portant à son extrémité N-terminale des constituants lipidiques. La partie lipidique est enchâssée dans la membrane externe par des liaisons hydrophobes et la partie polypeptidique est associée au peptidoglycane par des liaisons covalentes qui se forment avec les acides diaminopiméliques. Ces lipoprotéines sont quantitativement très importantes et certaines d'entre elles sont libres dans l'espace périplasmique. L'espace périplasmique renferme des protéines qui fixent de nombreuses molécules (galactose, maltose, glutamine, ...) avant qu'elles ne puissent franchir la membrane cytoplasmique, il renferme des enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (penicillin binding protein) et il séquestre de nombreuses protéines qui ne peuvent être excrétées (phosphatases, ribonucléases, -lactamases, ...) ou qui ne seront libérées que de manière partielle (Flandrois.J-P, 1997)

#### *d. Couche interne*

La couche interne est 50 Å d'épaisseur, contient du peptidoglycane (PG) qui recouvre la membrane cytoplasmique et dont la structure est comparable à celui des bactéries à Gram

positif. Toutefois, il ne contient jamais d'acides téchoïques et il ne représente que 10 p. cent du poids de la paroi. Comme pour les bactéries à Gram positif, il est le squelette de l'enveloppe et il joue un rôle essentiel pour l'intégrité cellulaire. (Chevallier, 1981).

### *e. Cytoplasme*

Le cytoplasme comprend une phase dispersante constituée par une solution de sels minéraux et de composés solubles de nature lipoprotéiques, une phase dispersée formée de nucléoprotéines et de lipides. Son PH est situé entre 7 et 7,2. (Leclerc ,1983). Les principaux éléments constitutifs du cytoplasme sont les ribosomes, les mésosomes et certains organites spécialisés (Le Minor et Verron, 1989).

### **I.2.2. Caractères cultureux :**

La culture des Brucella nécessite, au moins au sortir de l'organisme, l'utilisation de milieux enrichis par du sérum ou sang de mouton. Les conditions physiques optimales pour leur croissance est un pH à 6,8 et une température de 34°C (De Boeck et Larcier, 1999).

### **I.2.3. Caractères biochimiques.**

Les Brucella possèdent oxydase, catalase et uréase. Elles n'utilisent pas le citrate et ne produisent pas d'indole ni acétyl-méthyl-carbinol (réaction de Voges-Proskauer négative). L'utilisation des sucres est lente et n'est pas décelée sur les milieux usuels car l'acidification est masquée par la production d'ammoniaque (De Boeck et Larcier, 1999) et (Cleon, 1988).

**Tableau 02:** Classification de HUDDLESON (1943)

Brucella	Besoin en CO <sub>2</sub>	Production H <sub>2</sub> S	Uréase	Croissance sur		Agglutination par	
				Thionine	Fuchsine	Anti-A	Anti-M
Melitensis	-	-	+	+	+	-	+

Les résultats d'hybridation ADN-ADN tendent à montrer que les Brucella ne constituent qu'un seul groupe génomique avec plus de 90% d'homologie. Ceci remet en cause la classification en 6 espèces qui ne constitueraient en fait que des sérotypes au sein d'une seule espèce : Brucella (De Boeck et Larcier, 1999).

### **I.2.4. Caractères biologiques**

Les brucelles rejetées dans les milieux extérieurs par un animal infecté, peuvent rester vivantes et virulentes très longtemps, si elles sont protégées des rayons ultraviolets du soleil (Oger, 1986).

**Tableau 03:** Survie des brucelles dans l'environnement (Le Guyon, 1960).

Milieu	Durée de vie
Gélose	Neuf (9) mois
Terre et poussières stérilisées	Deux semaines à deux mois
Lait	Vingt (20) jours
Urine et vêtements souillés d'urine	Vingt (20) jours à plusieurs mois
Locaux vides, mangeoires, abreuvoirs	Un à deux mois
Prairies	Un à trois mois
Fumier et litières	Un mois en profondeur à un an en surface
Avortons	75 jours
Points d'eau	10 à 70 jours

### **I.2.5. Résistance aux agents physico-chimiques :**

Le LPS est très résistant à de nombreux agents physiques ou chimiques.

Il ne peut pas être détoxifié par l'action conjointe du formol, du vieillissement et de la chaleur et il n'est donc pas transformable en anatoxine contrairement à ce qui est observé pour certaines toxines protéiques.

L'hydrolyse par les acides ou les bases ou l'oxydation (par le permanganate, les hypochlorites, ...) du LPS est possible mais il faut utiliser les agents chimiques dans des conditions telles qu'ils altèrent les autres constituants biologiques et qu'ils modifient l'antigénicité du LPS.

La thermorésistance est très élevée. Pour détruire l'activité endotoxinique il faut un chauffage de 7 heures à 126°C ou un chauffage de 30 minutes à 145°C en chaleur humide et, dans un four, il est nécessaire de chauffer 7 heures à 170°C ou 30 minutes à 250°C.

### **I.2.6. Pouvoir pathogène**

La libération d'endotoxine dans la circulation sanguine, notamment à la suite d'une septicémie, peut conduire à un choc endotoxinique et à la mort. Les traitements antibiotiques peuvent conduire à une libération importante d'endotoxines. L'importance de cette libération est variable selon les molécules et, d'une manière générale, les antibiotiques peuvent être classés (en allant des molécules faisant libérer les quantités les plus importantes vers les molécules faisant libérer les quantités les plus faibles) de la manière suivante : céphalosporines, pénicillines, aminosides et quinolones.

L'intensité du pouvoir pathogène des endotoxines est variable selon l'espèce animale et selon la bactérie mais les signes observés sont pratiquement toujours identiques.

#### **I.2.6.1. Chez l'animal (ovin et caprin) :**

Les ovins ont tendance à se débarrasser spontanément des *Brucella* plus facilement et dans une proportion supérieure aux animaux de l'espèce bovine. Une proportion importante des brebis aurait ainsi tendance à l'autostérilisation dans un délai de 6 mois à 1 an, en période de repos sexuel. Néanmoins, la persistance de l'infection sur un certain nombre d'animaux assure la pérennité de la maladie dans le troupeau. L'avortement ne survient habituellement qu'une fois.

Chez la chèvre, la pauvreté, voire l'absence des signes cliniques de brucellose contraste avec la distribution extensive de *B. melitensis* dans l'organisme. Contrairement à la brebis, chez laquelle la guérison spontanée peut survenir chez une certaine proportion des sujets, la chèvre demeure généralement infectée une grande partie de son existence, elle peut ainsi éliminer de 50000 à 200000 bactéries /cm<sup>3</sup>, pendant une durée de cinq à six mois (Le Minor et Verron, 1989). La réponse sérologique après infection apparaît en outre plus durable (4).

Dans les formes latentes, les chèvres, brebis excrètent la bactérie par le lait qui représente donc un facteur de diffusion et favorise la contamination de l'homme par voie digestive. Les conséquences économiques des épizooties sont désastreuses pour les éleveurs (De Boeck et Larcier, 1999).

#### **I.2.6.2. Chez l'homme :**

Les *Brucella* sont responsables de septicémie subaiguë (fièvre ondulante sudoroalgique) avec localisations viscérales multiples, articulaires, neuro-méningées, pulmonaire, hépatique ou testiculaires... (Alazart, 1986).

##### ***a. Sources de contagion :***

Elles sont représentées par les ovins et caprins malades ou infectés (surtout en période d'agnelage), et éventuellement d'autres espèces animales infectées (bovins, chiens, ruminants sauvages...). Le bélier ou le bouc peuvent jouer un rôle important dans la persistance et la dissémination de l'infection (fréquence des formes inapparentes, persistance du portage). La persistance du germe dans l'environnement joue également un rôle important.

##### ***b. Modes de transmission***

###### **- *Transmission verticale :***

Elle peut se réaliser in utero (naissance d'un nouveau viable mais infecté) ou lors du passage du nouveau né dans la filière pelvienne. Les jeunes, plus résistants, se débarrassent généralement de l'infection. L'infection persiste toutefois jusqu'à l'âge adulte chez environ 5 à 10% des produits nés de mère brucellique, sans susciter de réaction sérologique décelable. Les

signes cliniques (avortement éventuel) et la réaction sérologique n'apparaîtront, chez les jeunes femelles infectées, qu'à la faveur de la première gestation. (Ganière J.-P. et al, 2008).

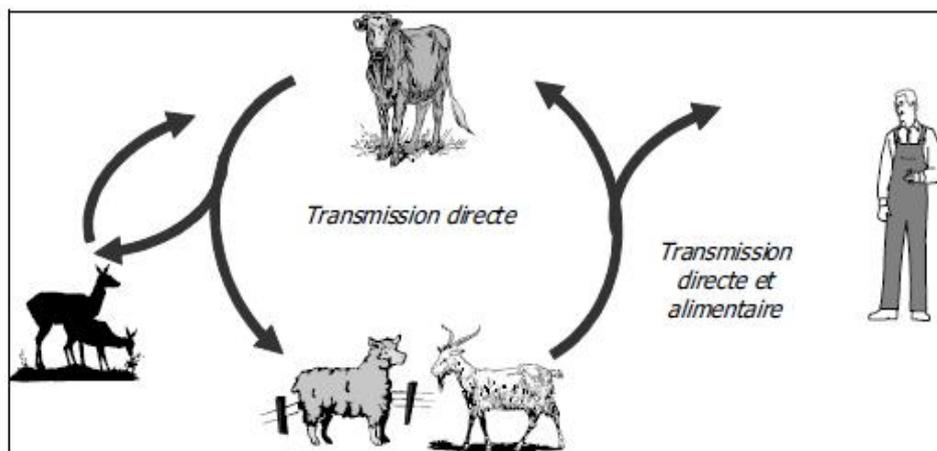
- **Transmission horizontale : (directe et indirecte)**

**a) Directe :**

Contacts directs entre individus infectés et individus sains lors de la cohabitation (notamment en période de mise bas), ingestion, contamination vénérienne.

**b) Indirecte**

Par l'intermédiaire des locaux, pâturages, véhicules de transport, aliments, eaux, matériel divers (matériel de vêlage...) contaminés par les matières virulentes.



**Figure 04 :** Représentation schématique du cycle zoonotique de la brucellose des ruminants (Barbara Duffour, 2004).

**c. Voies de pénétration :**

Cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive et vénérienne.

**d. Facteurs de sensibilité et de réceptivité :**

- **Gestation :**

Facteur important de sensibilité. Une vache adulte contaminée hors gestation développera dans plus de 50% des cas seulement une infection de courte durée spontanément curable.

- **Âge :**

La période de sensibilité maximale est atteinte après complet développement des organes génitaux (maladie des animaux pubères). Les bovins 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.

**II.1. Importance :**

Elle est d'abord hygiénique, en raison du fort pouvoir pathogène de la bactérie pour l'Homme, qui peut se contaminer par contact direct avec les animaux infectés ou par la consommation de lait et de fromages frais. Quant à son importance économique, elle tient aux pertes engendrées par les avortements et les cas de stérilité, ainsi qu'aux conséquences sur la commercialisation des produits. Elle provoque également une hausse du taux de mortalité périnatale, des morts chez les femelles, et une baisse des productions.

C'est une maladie réputée contagieuse, elle appartient à la liste des maladies prioritaires de l'Office International des Epizooties (IVS, 2004)

**II.2. Epidémiologie synthétique :****II.2.1. La situation mondiale de la brucellose humaine :**

L'épidémiologie de la maladie humaine est étroitement liée à l'infection animale. La fréquence de la maladie humaine est difficile à évaluer en raison de son polymorphisme clinique et de la sous déclaration. Si l'incidence de la maladie est en nette régression dans les pays développés, il n'en est pas de même dans les pays en voie de développement où elle peut atteindre des taux préoccupants (Frobisher.M et Furest. R, 1975). L'infection est souvent liée à une exposition professionnelle et est plus particulièrement contractée par les voies orale, conjonctivale ou respiratoire. L'ingestion de produits laitiers constitue, quant à elle, le risque majeur pour la population générale. Le risque est important pour les vétérinaires et les éleveurs qui manipulent les animaux infectés et les avortons ou placentas. La brucellose est l'une des infections acquises au laboratoire les plus fréquentes (INRA, 2007).

Toute fois, A l'échelle mondiale, la brucellose atteint encore plus de 500 000 individus chaque année .L'incidence de la maladie est variable selon les pays et les régions allant de 0,125 à 200 cas pour 100 000 habitants (Frobisher.M et Furest. R, 1975). La situation mondiale de la brucellose humaine peut donc être schématiquement scindée en deux groupes : les infections autochtones fréquentes des pays enzootiques, et les infections rares des voyageurs des pays indemnes de brucellose animale. Ces deux situations se reflètent dans les incidences rapportées : moins de 100 cas par an aux USA depuis plus de 10 ans [14] soit une incidence annuelle de 0,036 cas /100 000 habitants et jusqu'à 200 cas /100 000 habitants aux Moyen-Orient [2]. Dans certains pays enzootiques, l'incidence rapportée est faible en raison de l'absence de systèmes de surveillance ou de leur insuffisance IVS; (2004).

### II.2.2. La situation mondiale de la brucellose caprine et ovine :

Les échanges commerciaux, le prêt des béliers ou de boucs, et surtout la transhumance jouent un rôle important dans la contamination des cheptels indemnes. Les séjours des animaux dans des pâtures ou des bergeries contaminées sont également à incriminer.

L'infection s'étend dans les troupeaux à deux périodes préférentielles : l'époque de la lutte (rôle des béliers et boucs) et la période des mises bas.

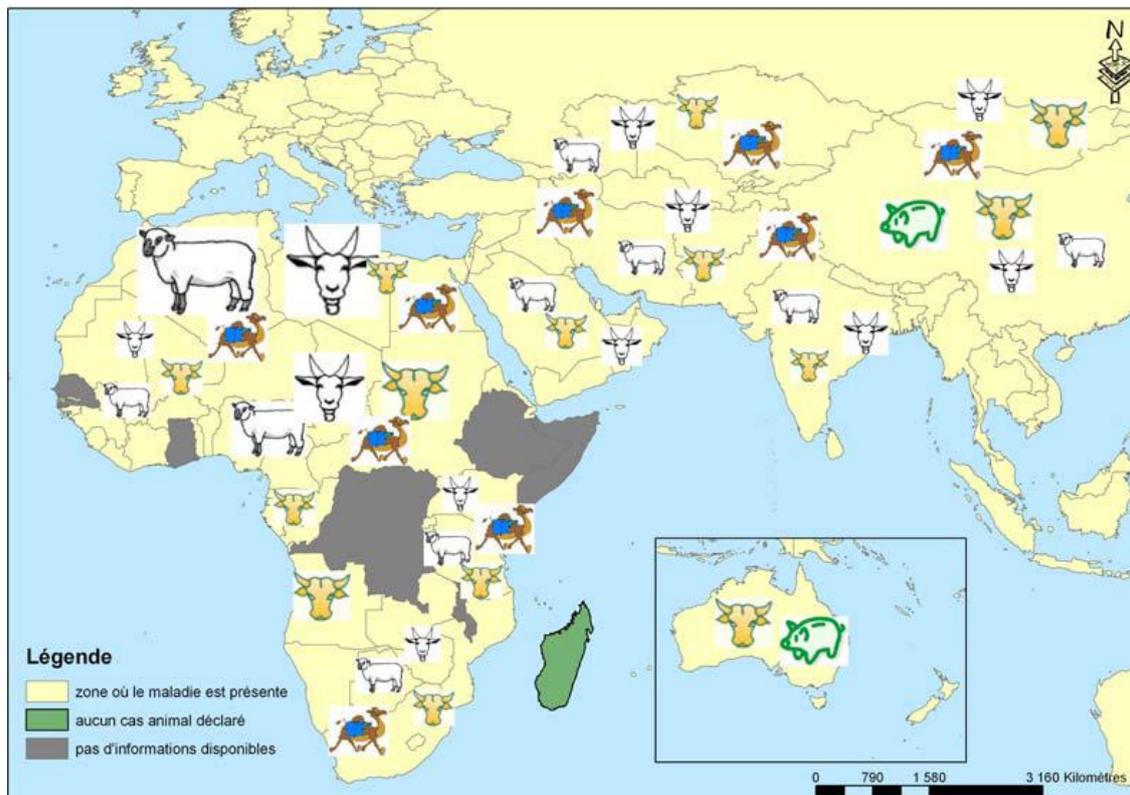
Classiquement, en milieu initialement indemne, la maladie se caractérise par des avortements nombreux la première année (jusqu'à 50 à 90 p. cent des femelles dans certains cas). Les avortements deviennent rares l'année suivante (primipares, femelles nouvellement introduites) et disparaissent ensuite. En réalité, l'infection persiste, expliquant la réapparition des avortements au bout de quelques années en raison de l'augmentation du nombre des animaux sensibles que constituent les générations de remplacement et donnant ainsi un aspect cyclique à la maladie.

Dans les régions anciennement infectées (cas des régions méditerranéennes), la brucellose évolutive accompagnée d'avortements est remplacée peu à peu par une brucellose latente, sans symptomatologie perceptible ou révélée par des avortements isolés ou survenant par petites flambées cycliques (CLEON. V, 1988).

### II.2.3. Répartition géographique :

La brucellose est responsable d'une antroponose qui touche le monde rural, et est répandue dans le monde entier (AVRIL et al. 1992).

La répartition géographique des principales espèces de *Brucella* et de leurs biotypes n'est strictement liée à des aires géographiques bien définies. (Le Minor et Verron, 1989).



**Figure 05 :** Statut des pays et principaux réservoirs de brucellose par zone géographique en Asie, en Océanie et en Afrique. (IVS, 2004)

### II.2.3.1. Dans le monde.

L'infection à *B. melitensis* est moins largement répartie dans le monde que celle de *B. abortus* chez les bovins. Elle suit en fait la répartition de l'élevage ovin, son importance relative étant maximale dans les pays circum-méditerranéens (cette région représente d'ailleurs le berceau de la mélitococcie) (CLEON. V, 1988), elle sévit également en Amérique centrale (Mexique) et du sud (Pérou), au Moyen-Orient, en Asie (Inde, Chine) et en Afrique noire (Frobisher. M et Furest. R, 1975). Les pays d'élevage intensif du mouton comme l'Australie, la Nouvelle Zélande ou la République Sud-Africaine sont indemnes. Au sein de l'UE, la maladie sévit à l'état enzootique en Grèce, en Italie, au Portugal, en Espagne et en France (Ceon. V, 1988) **(Voir photos 04)**

**Tableau 04:** Brucellose humaine dans le monde, 500.000 nouveaux cas annuels (OMS, 2000).

France (2006) (cas importés)	30	Iran (2002)	17.720
Espagne (2006)	324	Mexico (1999) (20 morts)	> 2.000
Grèce (2005)	331	Mongolie (1997)	1.000
Italie (2006)	303	Russie (2006)	418
Portugal (2006)	92	Algérie (2007)	7.610
Jordanie (1998-2002)	1.878	Maroc (2007)	24
Syrie (2002)	11.764	Tunisie (2007)	514
Turquie (1994)	8.383		

**II.2.3.2. Dans le bassin méditerranéen :****Tableau 05:** Situation de Brucellose des petits ruminants au niveau du bassin méditerranéen (Source OIE. 2003-2006).

Pays	Années	Brucellose des petits ruminants			Vaccination
		Foyers	Cas	Abattus	Espèces
Italie	2005	1481	+( )	+( )	
	2006	4.391	97.103	30.910	
Espagne	2005	2.216	71.326	34.970	Bovins + Caprins
	2006	3.055	66.415	125.402	
France	2003	6	+( )	3323	
	2006	...	...	...	
Maroc	2005	1	+( )	+( )	Ovins
	2006	...	...	...	
Tunisie	2005	14	179	9	Bovins
	2006	13	153	7	
Grèce	2005	+( )	+( )	+( )	Bv + ov /cp
	2006	171	924	454	
Algérie	2005	818	6.639	6.639	ov /cp
	2006	227	1.029	1.029	

a. + : Maladies présentes.

( ) : Nombre de cas inconnu.

II.2.3.3. En Algérie :

a. La prévalence de la brucellose des petits ruminants

La brucellose animale n'a été recherchée que lorsque l'homme en été le révélateur. Cependant, l'initiation au dépistage de cette maladie a été organisée suite à une épidémie qui était déclarée en 1984 à Ghardaïa avec plus de 600 cas cliniques dont 248 cas confirmés par la sérologie à l'institut Pasteur. A la suite de cette épidémie, le ministère de l'agriculture a mené une étude épidémiologique qui avait touché les trois espèces bovine, caprine et ovine à l'échelle nationale avec une collaboration étroite entre les services médicaux et les services vétérinaires. La mélitococcie était implantée en particulier dans les zones de transhumance où le brassage des animaux rendait plus difficile sa maîtrise sanitaire. - L'absence de spécificité d'hôte qui caractérise la plupart des espèces du genre *Brucella* explique l'interdépendance qui peut exister entre les brucelloses des diverses espèces animales et les conséquences épidémiologiques qui en découlent (Cleon. V, 1988).

b. Évolution de la Pathologie dans le temps et dans l'espace chez l'espèce caprine :

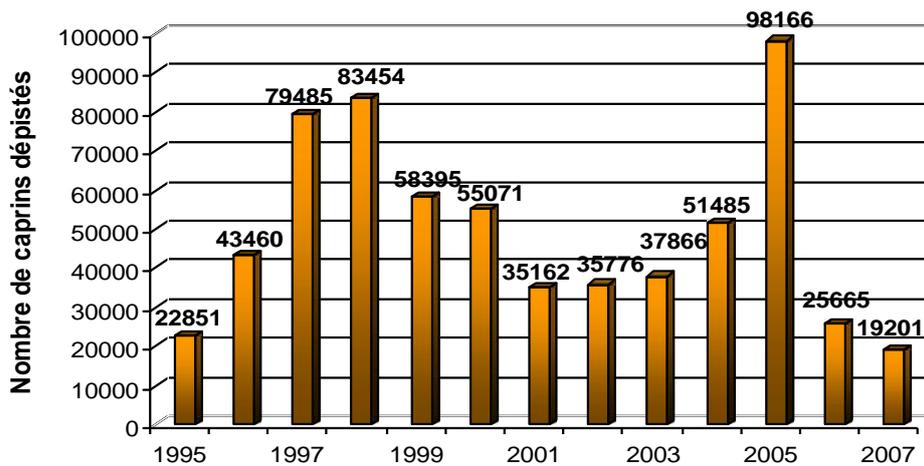


Figure 06 : Évolution du dépistage de l'espèce caprine de 1995 à 2007

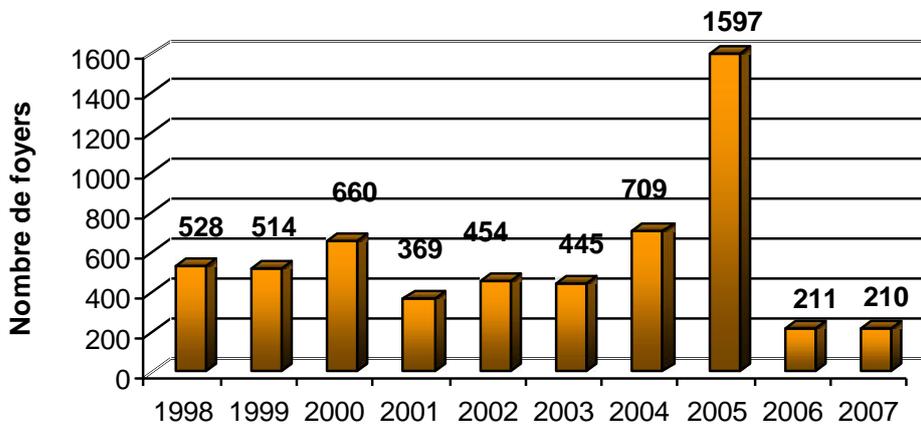
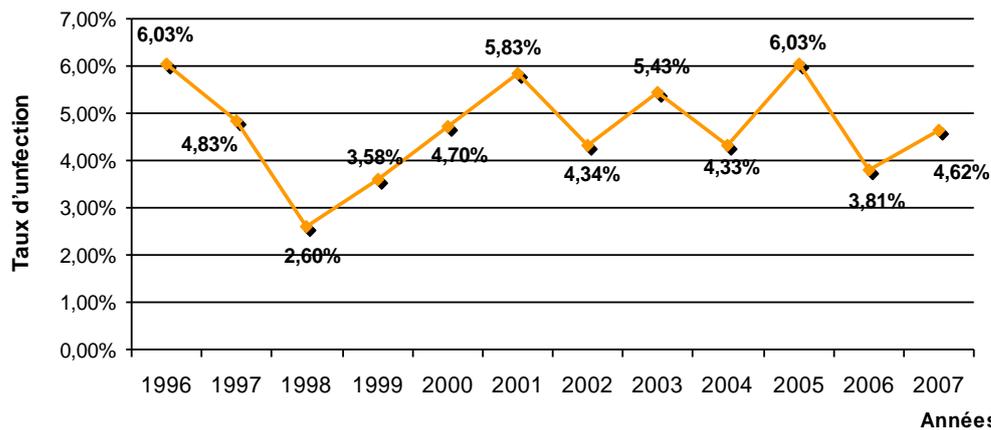


Figure 07 : Évolution des foyers de Brucellose caprine de 1998 à 2007



**Figure 08 :** Evolution du taux d'infection de la Brucellose caprine depuis 1996 à 2007.

Ainsi pourrions nous dire que l'éradication a permis des prévalences annuelles qui diminuent progressivement le taux de l'infection, et ceci peut être due aux mesures prophylactiques qui se réalisent essentiellement dans les zones à haut risque.

### *c. La prévalence chez l'homme :*

La brucellose constitue un véritable fléau social dans plusieurs régions du monde, notamment le pourtour du bassin méditerranéen. L'Algérie, de par sa situation géographique, se trouve également touchée, mais les taux d'infection enregistrés ne reflètent pas la morbidité réelle. En plus de la morbidité infectieuse parfois grave et coûteuse, elle engendre des répercussions socioéconomiques importantes chez le cheptel. En 1990, on a estimé le coût direct d'un cas de brucellose humaine à 12000 DA (sans compter le coût indirect) ; les cas déclarés au cours de cette année ont coûté entre 7200 000 et 12 millions de dinars algériens, sans compter le poids financier dû aux pertes dans le cheptel. Elle sévit à l'état endémique avec des poussées épidémiques.

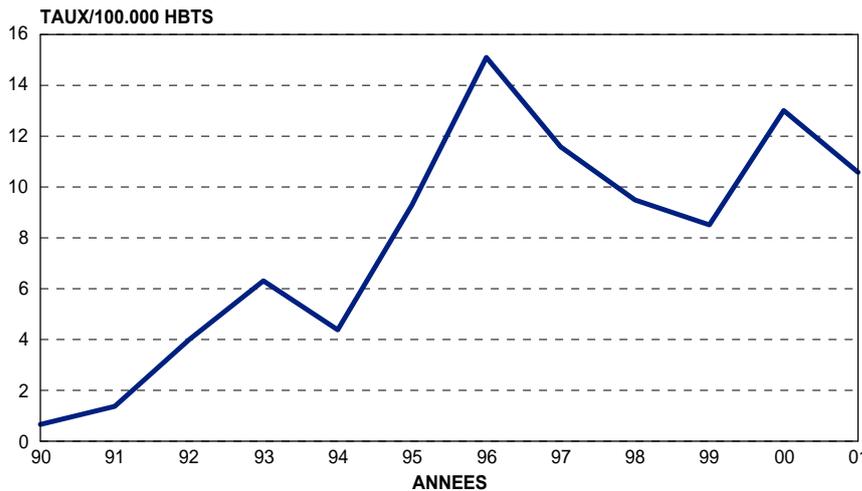
De plus, Le chargé du programme de lutte contre les zoonoses au ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière, le Dr DJAMEL LIMI révèle que l'Algérie est passée de 10,51% cas de brucellose en 1997 (3029cas) à 25,66 en 2006 (8 404 cas). La différence est de taille. Elle enseigne sur le degré de l'ignorance de nombreux éleveurs qui élèvent des vaches où consomment le lait de vache et ses dérivées, en particulier la crème (Aggad, 2004)

L'incidence de la brucellose humaine et parfois liée aux conditions climatiques si les animaux sont logés à proximité, ou à l'intérieur des habitations dans un but de protection. Les brucelles peuvent pénétrer dans le corps humain par n'importe quelle petite abrasion cutanée, mais les

risques sont accrus pour les personnes utilisant des scies, des couperets et autres instruments tranchant.

Les ingénieurs agricoles peuvent s'infecter en réparant des machines et des tracteurs contaminés. Le fumier, le sol et les pâturages peuvent constituer de sources de micro-organismes viables pendant plusieurs mois après la contamination. (FAO, 1986)

C'est une maladie qui est très peu diagnostiquée à cause de son polymorphisme clinique; les taux rapportés chez l'homme contrastent avec les taux élevés de séropositifs dans le cheptel.



SOURCE : INSP

Figure 09 : Incidence de la Brucellose années 1990- 2001.

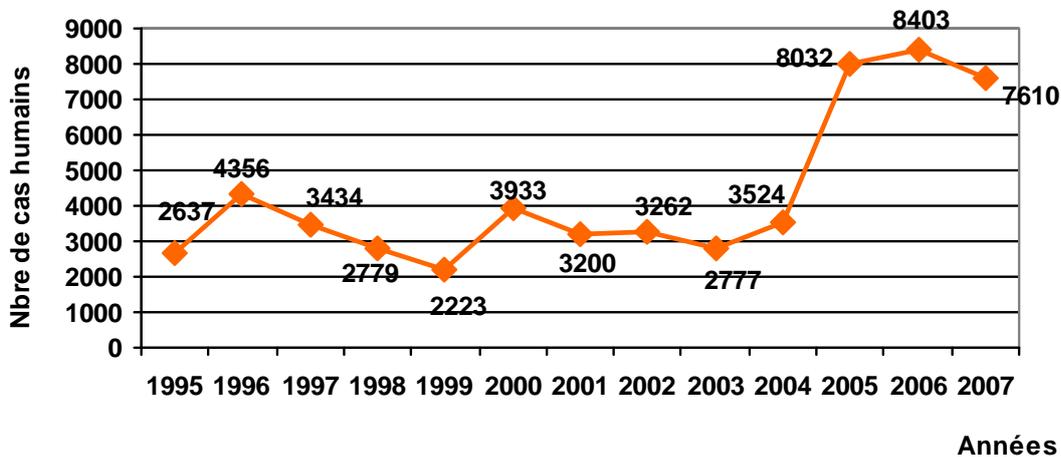
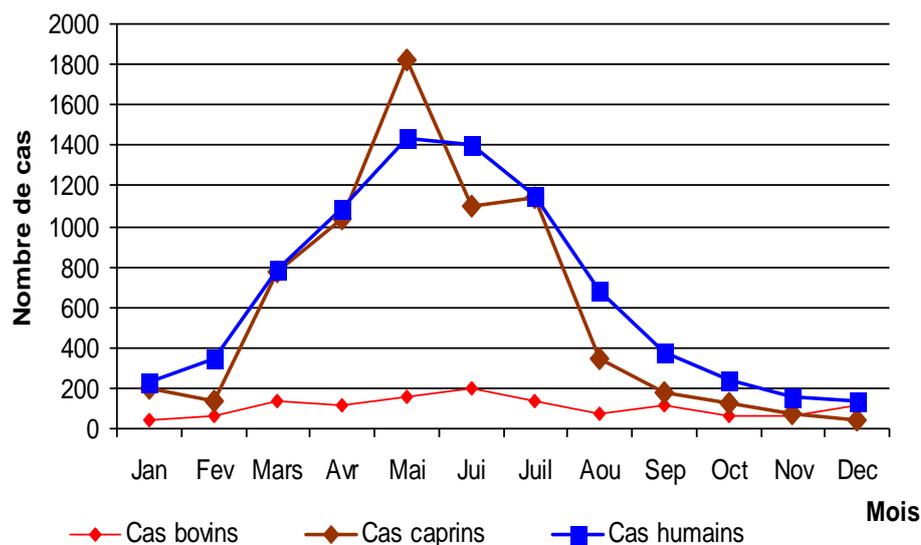


Figure 10 : Évolution des cas de Brucellose Humaine (1995-2007)



**Figure 11 :** Evolution mensuelle du nombre de cas humains par rapport aux cas caprins et bovins (2005).

**Tableau 06 :** Evolution de l'indemnisation des éleveurs en matière de Brucellose bovine et caprine

Année	Coût indem <sup>o</sup> en millions de DA BV	Coût indem en millions de DA CP
1995	21,82	0,90
1996	25,74	2,35
1997	14,88	3,40
1998	22,64	1,95
1999	16,10	1,88
2000	11,76	2,33
2001	17,78	1,66
2002	15,16	1,40
2003	11,2	1,30
2004	29,78	3,79
2005	33,33	10,98
2006	39,98	1,13
2007	43,04	1,14
<b>Total</b>	<b>303,22</b>	<b>34,21</b>

Des indemnisations sont prévues par la loi au profit des fellahs qui abritent les vaches malades. Signalons à ce propos que, même si le lait est contaminé, la viande ne l'est pas. Les fellahs peuvent donc, après avoir abattu sa vache, vendre leur viande.

**II.2.4. Risques professionnels. (Salim D., 2008)**

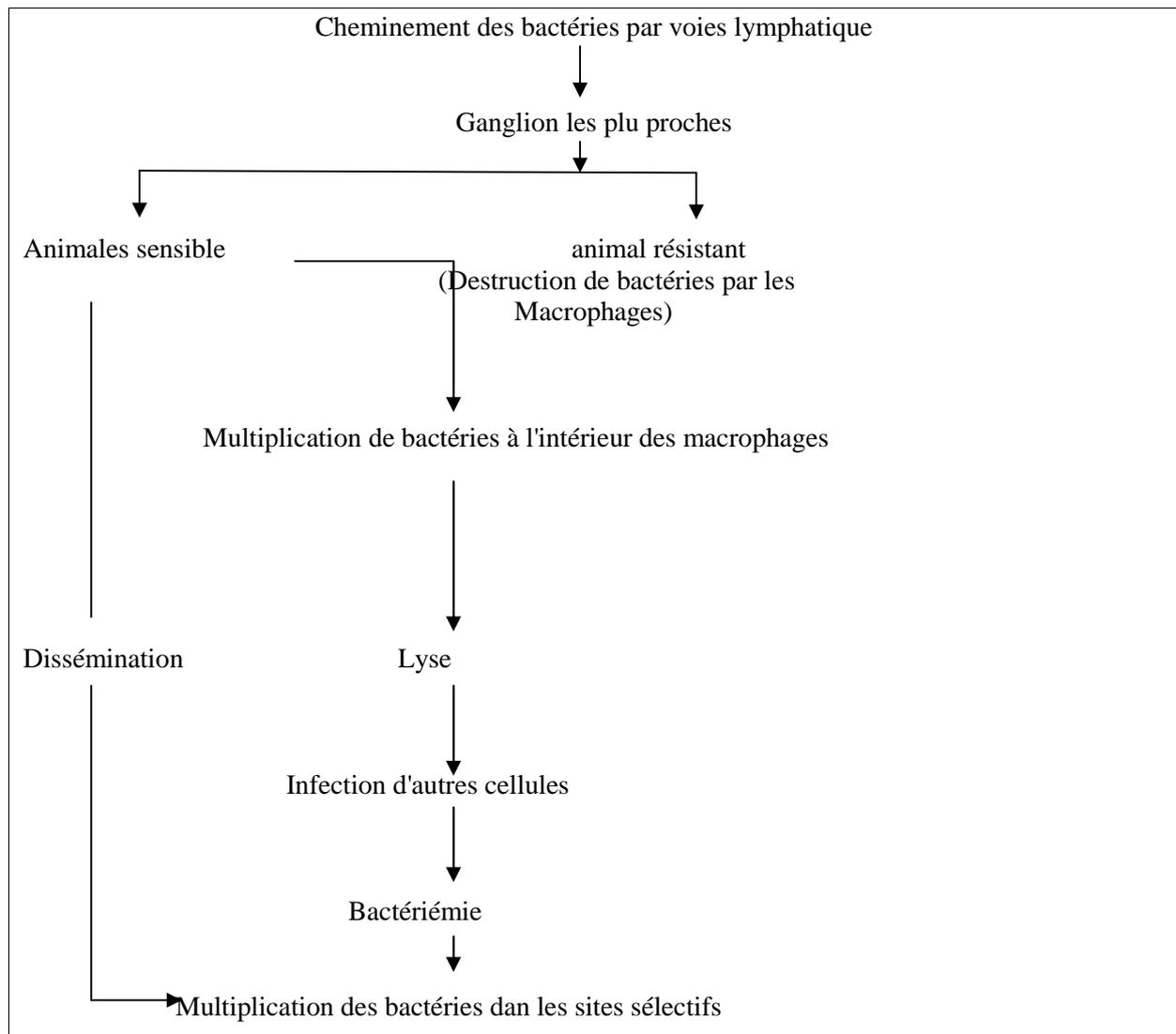
Parmi les infections acquises au laboratoire, la brucellose est la plus fréquemment signalée.

La brucellose est considérée comme une maladie professionnelle chez :

- les vétérinaires.
- les bouchers.
- les taxidermistes
- les agriculteurs.
- les biologistes.
- Le personnel de laboratoire.

### III.1. Physiopathologie

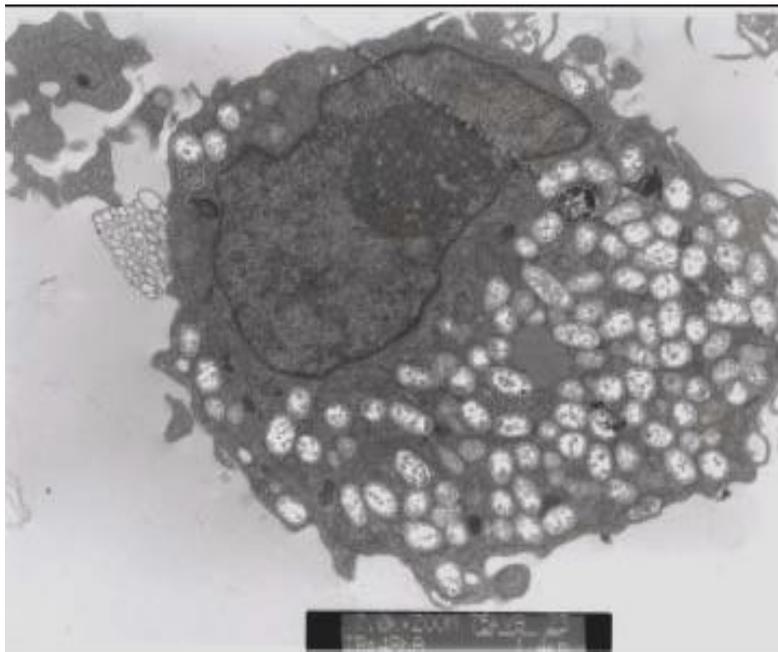
La brucellose est une maladie chronique dont la physiopathologie fait intervenir plusieurs phases successives. Au cours de la période d'incubation qui dure en moyenne 15 jours (Frobisher. M et al 1975), Les *Brucella* pénètrent dans l'organisme par voie cutanée, digestive ou respiratoire, et gagnent par voie lymphatique le premier relais ganglionnaire. Elles se multiplient et disséminent dans tout l'organisme par voie sanguine et lymphatique (Buchanan et al ; 1974). Cette phase correspond à la bactériémie initiale, où l'installent des localisations ganglionnaires, mammaires et utérines (Le minor et Verron, 1989).



**Figure 12 :** Chemin emprunté par les brucelles pour gagner les organes cibles  
(Giboon et al, 1970)

La brucellose se caractérise dans sa phase aiguë par une septicémie d'origine lymphatique, les bactéries colonisent les organes riches en cellules réticulohistiocytaires. (Ganglions lymphatiques, foie, rate, la glande mammaire, tissus osseux, les reins, la moelle épinière et le tractus génital.) Où vont se constituer des foyers bactériens intra-cellulaires entourés d'une réaction inflammatoire histiomonocytaire et lymphocytaire (Harmon et al ; 1988). Les *Brucella* sont des bactéries intracellulaires facultatives qui sécrètent un facteur empêchant l'apoptose des macrophages infectées (voir photo 02) (Frobisher. M et al, 1975). Elles peuvent se répliquer Dans les phagosomes et inhiber la fusion des phagosomes et lysosomes, expliquant leur persistance dans l'organisme (Harmon et al ; 1988). Elles les détruisent en libérant antigène et endotoxine mais peuvent aussi s'y multiplier rapidement : les *Brucella* sont des bactéries « à développement intracellulaire facultatif » (De Boeck et Larcier, 1999).

Les endotoxines exercent leurs effets de manière indirecte en activant des molécules circulantes ou en se liant sur des récepteurs cellulaires



**Figure 13 :** Multiplication intra-macrophagique de *Brucella*.

(Microscopie électronique, 48h d'infection cellulaire) ( Euzeby J.P. 2004)

Si les bactéries ne sont pas atteintes par les mécanismes microbicides des macrophages, elles détruisent leurs cellules hôtes et infectent d'autres cellules. Elles peuvent aussi se répliquer à l'extérieur des cellules dans les tissus hôtes. Si ces microbes ne sont pas détruits ou retenus dans les nœuds lymphatiques, ils vont provoquer une septicémie. La réponse histiopathologique de

La cellule hôte peut varier de la formation d'abcès à une infiltration Lymphocytaire ou formation de granulomes avec nécrose caséuse (Young et al, 1985 ; Corbel et al.1988).

### **III.1.1. Activation de molécules circulantes**

Les endotoxines activent le facteur XII ou facteur de « Hageman » qui initie le système de la coagulation sanguine avec, comme conséquence, la conversion du fibrinogène en fibrine. En cas de choc, la libération prolongée d'endotoxines peut conduire à une thrombose et à une consommation excessive de plaquettes et des facteurs II, V et VII de la coagulation. L'expression clinique de ces événements est une coagulation intravasculaire disséminée.

L'activation du facteur de Hageman stimule également la conversion de la prékallitréine en kallitréine avec pour résultat la conversion du kininogène en bradykinine. Les effets de la bradykinine sur le système vasculaire consistent principalement en une augmentation de la vasoperméabilité pouvant conduire à une hypotension. Le LPS active le système complémentaire et il en résulte une augmentation de la vasoperméabilité, un effet chimiotactique pour les granulocytes neutrophiles dont une stase au niveau pulmonaire peut contribuer à un syndrome de détresse respiratoire. (Voir schéma I .b).

### **III.1.2. Activation cellulaire**

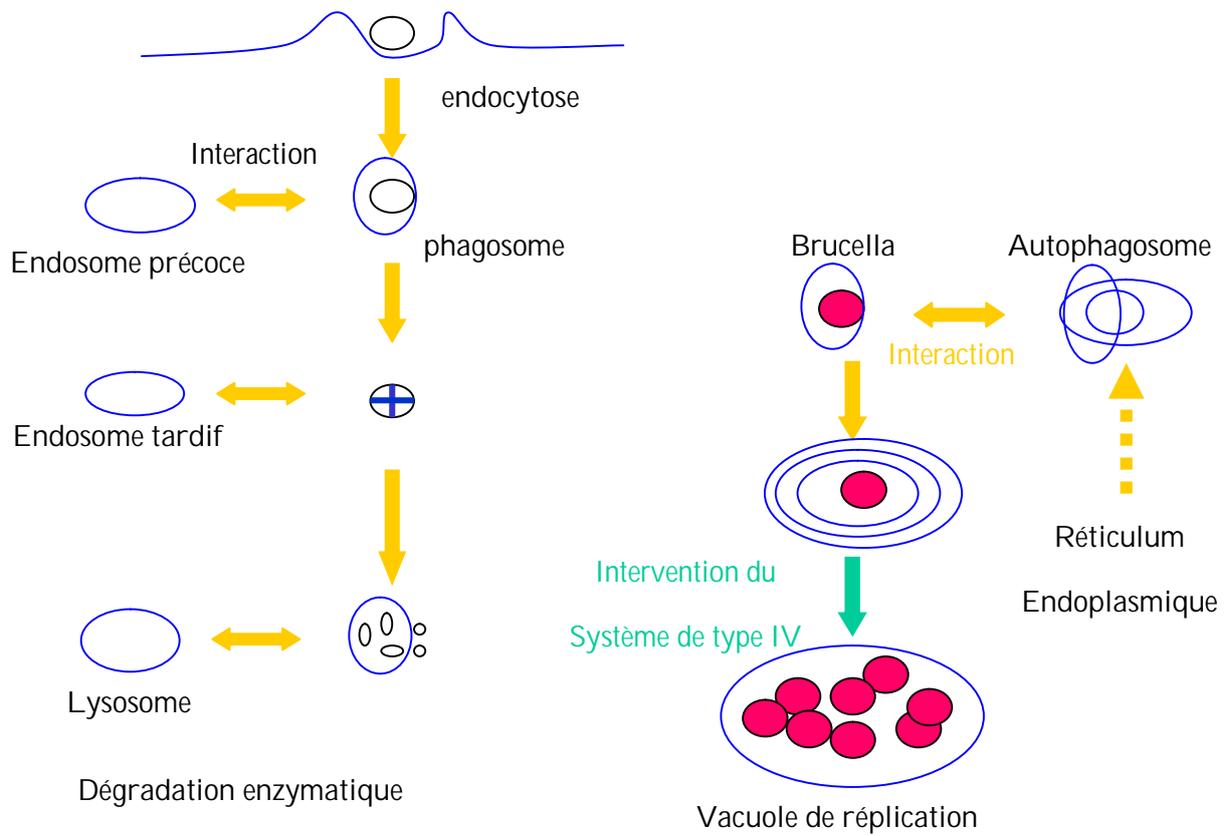
Plusieurs cellules sont aptes à répondre aux endotoxines et c'est tout particulièrement le cas des monocytes/macrophages et des cellules endothéliales (voir schéma I. a). En réponse aux endotoxines les monocytes, les macrophages et les cellules endothéliales produisent des cytokines dont l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8 et le TNFalpha (non élaboré par les cellules endothéliales). De plus, ces cellules produisent des dérivés oxygénés ainsi que des métabolites de l'acide arachidonique (prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes) et du PAF (Platelet Activating Factor). Produit en quantité modérée, l'ensemble de ces molécules a un effet bénéfique mais lorsque leur production est excessive il en résulte des altérations tissulaires, une hypotension, une coagulation intravasculaire et une hyperthermie élevée. (Voir schéma I .b).

L'action du TNF et de l'IL-1 sur les cellules endothéliales conduit à une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion notamment ICAM 1 dont les ligands sont les complexes CD11a/CD18 (LFA 1) et CD11b/CD18 (Mac 1) portés par les neutrophiles et les monocytes. L'adhésion des neutrophiles suivie de leur dissémination dans les tissus jouent un rôle majeur dans les phénomènes inflammatoires et une déplétion expérimentale des neutrophiles a un effet protecteur.

Le LPS peut se fixer directement sur les monocytes et les macrophages par l'intermédiaire de la molécule CD18 ou par des protéines de 73 et de 40 kDa. Toutefois, il n'est pas encore définitivement prouvé que ces interactions provoquent une activation des cellules. En fait, le principal signal d'activation résulte de la fixation sur la molécule CD14 d'un complexe LPS-LBP. La LBP ou LPS binding protein (protéine liant le lipopolysaccharide) est une glycoprotéine de 60 kDa, produite par les hépatocytes et présente dans le sérum à des concentrations de l'ordre de 5 à 10 µg par mL. Lors d'inflammation, la concentration de la LBP peut atteindre 200 µg par mL. La molécule CD14 est ancrée dans la membrane cellulaire mais elle ne possède pas de structure permettant une activation de la cellule. Le complexe CD14-LPS-LBP doit réagir avec une autre molécule transmembranaire (non caractérisée) pour délivrer un signal d'activation. (Euzeby J.P. 2004).

Les cellules endothéliales sont dépourvues de CD14 et leur activation fait intervenir une molécule sérique qui est la forme soluble du récepteur CD14. Le CD14 soluble est soit relargué par les cellules activées soit il provient d'un clivage enzymatique du CD14 membranaire. Il est présent dans le sérum à des concentrations de 3 à 6 µg par mL. Le LPS présent dans le sang forme un complexe LPS-LBP-CD14 soluble qui se fixe sur un récepteur porté par les cellules endothéliales. Ce récepteur semble être une molécule de 80 kDa dont on a montré qu'elle est capable de fixer du lipide A en présence de LBP et de CD14 soluble.

Les granulocytes neutrophiles sécrètent une protéine appelée bactericidal/permeability increasing protein (BPI) de poids moléculaire 55 kDa. Cette molécule, présente dans le sérum normal à des concentrations de 800 pg par mL, présente environ 40 p. cent d'homologie avec la LBP. Chez des sujets soumis à des endotoxines, la concentration sérique en BPI augmente et elle est de l'ordre de 19 ng par mL. La BPI se lie au LPS et inhibe ses effets si bien que la BPI est une protéine endogène capable de contrôler la réponse de l'organisme vis-à-vis du LPS. En se liant au LPS porté par les bactéries, la BPI conduit à une action bactéricide.



**Figure 14 :** Trafic intracellulaire classique/ Trafic intracellulaire de *Brucella* sp (8)

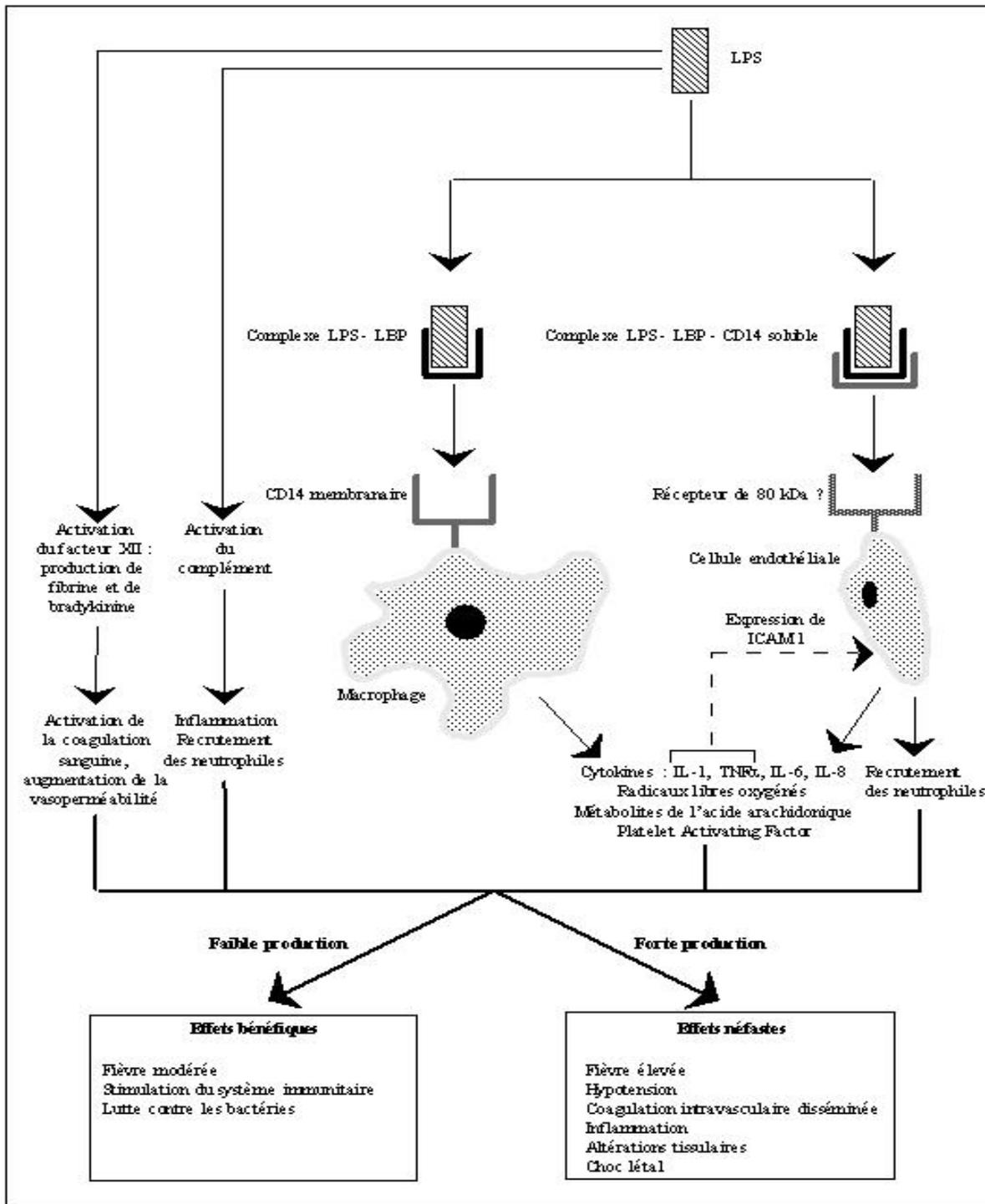


Figure 15 : Activation cellulaire des Brucella ( Euzeby J.P. 2004).

Pathogénie des endotoxines

Chez l'animal, la phase de bactériémie passe inaperçue, toutefois la seconde phase est caractérisée par l'hypertrophie de l'un ou les deux testicules, et dans certains cas, l'atrophie des testicules en entraînant une stérilité. Souvent on remarque une fourbure à cause de

l'arthrite. Chez la femelle, on note généralement un avortement lors de la seconde moitié de la gestation. (Craplet et Thibiet, 1980).

Chez l'homme, la première phase se traduit par une fièvre le plus souvent ondulante, généralement accompagnée de sueurs et de douleurs articulaires. Cette phase peut passer inaperçue, l'individu atteint peut guérir spontanément dans près de la moitié des cas, par contre la phase de multiplication se manifeste par des atteintes ostéo-articulaires, surtout du rachis et de l'articulation sacro-iliaque et moins fréquemment par des atteintes nerveuses, hépato-spléniques, génitales et bronchiques. (Radostitis et al. 1997).

### **III.2. Immunité :**

La brucellose confère une immunité définitive et croisée entre les différentes espèces de *Brucella*. Il s'agit d'une immunité cellulaire de type hypersensibilité retardée et d'une immunité humorale par production d'anticorps de type IgM apparaissant dès le 10<sup>ème</sup> jour puis de type IgG persistant seuls ultérieurement (Ferron et al. 1984).

#### **III.2.1. La réponse immunitaire :**

L'infection brucella conduit généralement à l'induction de la réponse immunitaire à médiation humorale et cellulaire. L'amplitude et la durée de ces réponses peuvent être affectées par de nombreux facteurs : virulence de la cellule infectante, taille de l'inoculum, âge, sexe, stade de la gestation, espèce et réaction immunitaire de l'hôte. Les deux types de réponses, humorales et cellulaires, présentent un intérêt au plan du diagnostic, mais les premières se présentent plus facilement aux mesures quantitatives (Ganière J.-P. et al. 2008)

#### **III.2.2. Isotypes d'immunoglobulines anti-brucella :**

##### **III.2.2.1. Isotypes bovins :**

Les isotypes d'immunoglobulines présentent à des concentrations significatives dans les sérums de bovins sont les IgG1, IgG2, IgM

On peut trouver des isotypes semblables à des concentrations relatives différentes dans le lait, bien que la plus part des IgA soient présentes sous forme sécrétoires. Les concentrations en IgA dans les sérums bovins sont généralement très faibles et le rôle de cet isotype dans les diverses épreuves sérologiques n'est pas bien défini. Bien que les IgA sécrétoires du lait jouent un rôle important dans l'épreuve de l'anneau, les IgM participent aussi à cette réaction, alors que les IgG, provoquent une agglutination au fond du tube et peuvent interférer avec la formation de l'anneau par les autres isotypes (scientific Committee on animal health ; 2001

Les IgM sont les premiers isotypes produits après une forte infection initiale ou une vaccination avec la souche 19. Elles peuvent généralement être mises en évidence la première ou la deuxième semaine après la stimulation antigénique initiale, et sont rapidement suivies par les IgG. Les IgG1 sont les plus abondantes dans le sérum et leur concentration dépasse celle des IgG2. L'amplitude et la durée de la réponse immunitaire induite par une vaccination est directement liée à l'âge au moment de la vaccination et au nombre de germes administrés. A la suite de l'immunisation d'un veau avec une dose standard de vaccin de souche 19, les concentrations en IgG décroissent généralement rapidement en 3 à 6 mois, jusqu'à des niveaux sans intérêt au plan du diagnostic. Les anticorps résiduels, s'il y en a, appartiennent principalement à la classe des IgM (Cecile. B, 2006)

A la suite d'une exposition à des B. abortus virulentes, les anticorps peuvent apparaître en 4-10 semaines ou plus, selon la taille et la voie d'entrée d'inoculum, et le stade de gestation de l'animal, mais même dans des conditions expérimentales contrôlées, la réponse varie beaucoup d'un animal à l'autre. Dans des environnements infectés, les animaux exposés à de petites doses peuvent présenter passagèrement de faibles titres d'anticorps, mais pas de signes cliniques ou bactériologiques d'infection. Un problème se pose avec un certain nombre d'animaux qui ne produisent pas d'anticorps de la classe des IgG avant la parturition. Ces animaux peuvent présenter de faibles titres d'IgM quelques semaines plus tôt, mais dans un cheptel vacciné, il est impossible de les différencier des animaux non infectés. Les anticorps des isotypes IgA, IgM, IgG1 et IgG2 peuvent tous réagir dans l'épreuve d'agglutination en tube, mais ceux de la classe des IgM sont les plus loin les plus efficaces (WHO; 1986)

Les anticorps de l'isotype IgG1 produit dans certains sérums peuvent bloquer l'agglutination par d'autres isotypes, IgM en particulier. L'activité agglutinante ou précipitante des IgG1 est renforcée aux fortes concentrations salines ou en milieu acide et cet isotype réagit dans l'épreuve sur carte et dans l'épreuve au rose Bengale. La réactivité des IgM dans ce type d'épreuve dépend de la méthode exacte de préparation de l'antigène et du mode opératoire.

On croit fréquemment qu'une production, soutenue d'IgG1 est caractéristique de l'infection chronique mais que les IgM persistent chez les animaux immunisés avec la souche 19. La réaction de fixation de complément est supérieure à l'épreuve d'agglutination en tubes pour déceler les infections chroniques alors que celles-ci sont plus sujettes à des réactions positives persistantes après immunisation avec la souche 19. On pense que ceci est dû au fait

que l'épreuve d'agglutination est plus sensible aux IgM qu'aux autres isotypes d'anticorps, alors que l'épreuve de rfc est particulièrement sensible aux IgG1 (WHO, 1986)

#### **III.2.2.2. Isotypes dans d'autres espèces. (OIE, 2009)**

La classification d'isotypes d'immunoglobulines d'ovins, de caprins et de porcins est semblable à celle que l'on a définie chez les bovins .toutefois, on dispose de peu d'information quant au comportement de ces isotypes sérologiques de détection de la brucellose réalisées sur les sérums de ces espèces (WHO, 1986).

#### **III.2.3. Spécificité antigénique des anticorps anti-brucella :**

Dans toutes les épreuves sérologiques classiques, les anticorps sériques titrés sont principalement dirigés contre l'antigène LPS-S. Les bovins infectés produisent également des anticorps, surtout des IgA1, à l'égard de l'haptène HN ou polysaccharide B. les anticorps précipitant dirigés contre ces antigènes ne sont produit que passagèrement par les bovins vaccinés (Chakroun et al, 2007).

#### **III.2.4. Immunité à médiation cellulaire à l'égard de brucella**

Les brucelles sont des pathogènes intracellulaires facultatifs. Elles sont facilement phagocytées par les macrophages et les leucocytes polymorphonucléaires, et les souches virulentes peuvent survivre à l'intérieur de ces cellules. Toutes les brucelles hébergées par l'hôte ne seront pas forcément intracellulaires, et la présence d'anticorps favorise la phagocytose. Toutefois, comme les brucelles virulentes peuvent survivre pendant de longues périodes à l'intérieur de macrophages normaux, la guérison dépend probablement de l'acquisition d'une activité bactéricide accrue par ces cellules phagocytaires (Flandrois J P, 1997).

L'activation des macrophages se produit lorsque les lymphocytes T de la sous population appropriée sont stimulés pour libérer les lymphokines (interleukines). La libération de des facteurs d'activation dépend de la reconnaissance de l'antigène approprié par le lymphocyte T et est sujette à régulation par l'intermédiaire du système majeur d'histocompatibilité (Ganière J.-P. et al, 2007)

L'hypersensibilité retardée et l'augmentation de l'activité bactéricide des macrophages apparaissent généralement parallèlement au cours de l'infection, mais la première peut également se produire en l'absence d'immunité protectrice efficace. Par conséquent certains vaccins brucelliques contenant des adjuvants induisent de manière efficace une

hypersensibilité retardée à l'égard des antigènes de brucella, sans que celle-ci soit toujours accompagnée d'une immunité protectrice (OMS, 2006).

Des anticorps préexistants ou transférés de manière passive peuvent protéger contre une infection ultérieure par de brucella. L'immunité à médiation cellulaire revêt une importance dans la guérison. Néanmoins, les microorganismes du genre brucella sont moins sensibles à la destruction des macrophages activés que *Listeria monocytogènes*, la bactérie intracellulaire facultative sur laquelle se sont appuyées des premières études de mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire. Cette résistance relative à la destruction de brucella peut contribuer à la chronicité de l'infection.

### **III.2.5. Vaccins**

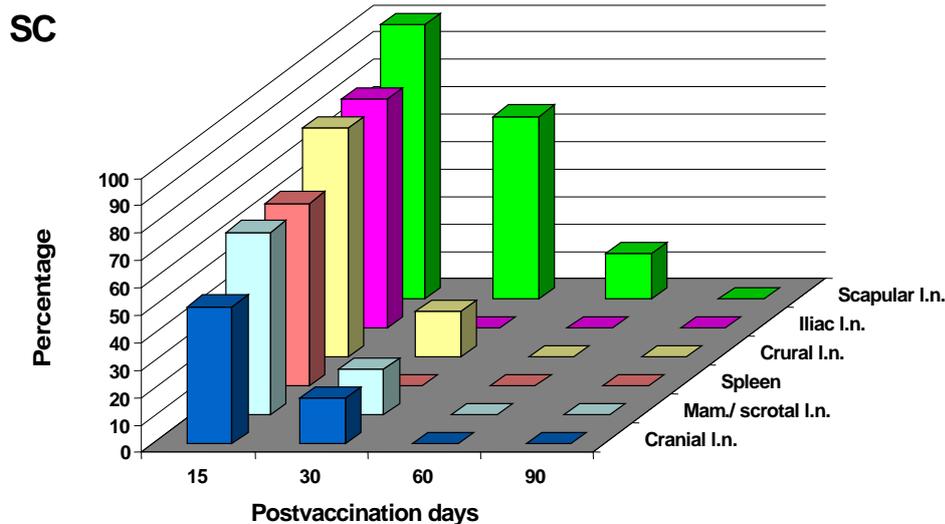
#### **-Vaccin *B. melitensis* Rev1**

Le vaccin souche Rev1 a été mis au point pour l'immunisation des ovins et des caprins (Hamdi M, 2000). La souche Rev 1 de *B. mélitensis* a été isolée sous forme d'un mutant réverse non dépendant de la streptomycine, obtenu à partir d'une souche virulente de *B. mélitensis* la souche "6056". Depuis 1955, on a montré qu'elle était peu virulente et qu'elle conférait une bonne immunité, mais également qu'elle induisait la production d'anticorps sériques pendant une durée variable (OMS, 1977). La stabilité de l'atténuation de la souche Rev1 a été amplement démontrée chez les cobayes, ovin et caprin. L'excrétion de la souche vaccinale dans le lait est possible pendant une période variable, mais sans que l'on connaisse de risque pour la santé publique (EL-Bachâane, 1998). Chez les ovins et les caprins, la vaccination se pratique généralement entre 4 et 6 mois à la dose sous-cutanée recommandée de  $10^9$  cellule. La protection conférée dure généralement 4 à 5 an chez les caprins et jusqu'à la deuxième ou troisième gestation chez les ovins on a suggéré que l'administration aux ovins et caprins adultes d'une dose plus faible de vaccin Rev.1 ( $5-10 \times 10^4$  cellules) pourrait jouer un rôle utile au début d'une campagne pendant laquelle certaines femelles pourraient être gravide et lorsque l'immunisation de jeune est en cours.

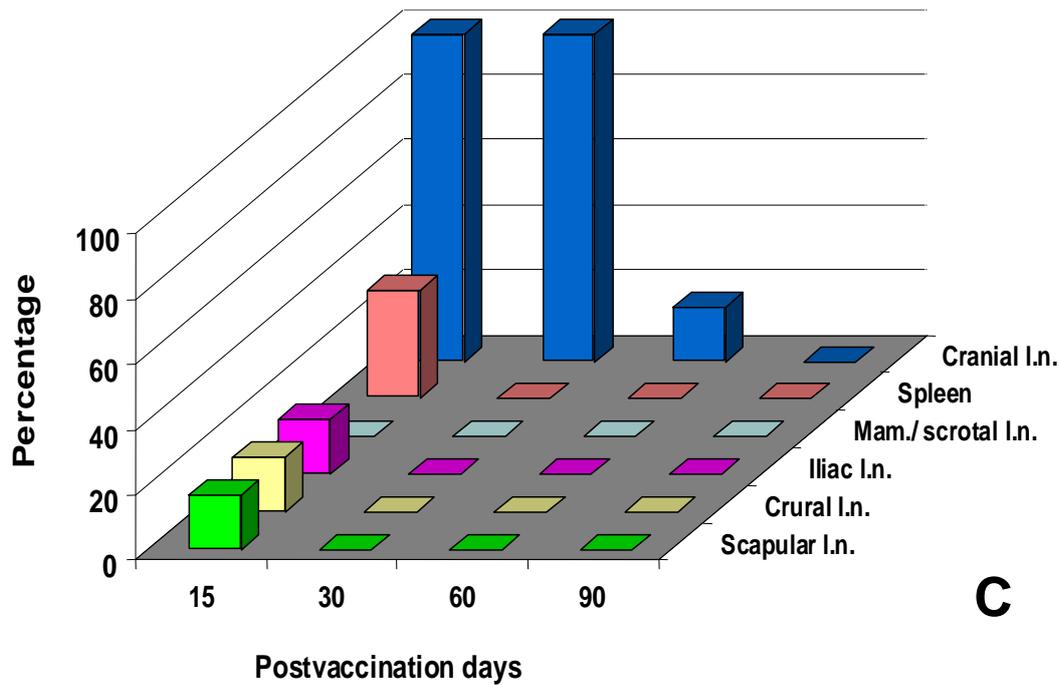
L'immunisation des agneaux par instillation conjonctivale d'une dose de  $10^8$  cellules de la souche Rev1 dans un volume de 0,1 de vaccin induit une protection semblable à celles qui est conférée par inoculation sous cutanée mais avec une réponse sérologique très faible et de courte durée. La littérature fait mention de résultats très variable quant à la réponse sérologique chez les chevreaux et les agneaux après injection d'une dose complète de vaccin Rev.1 ces divergences apparentes peuvent être dues à) de différence de races ou à la diversité

des types d'épreuve et d'interprétation utilisés. La durée de réponses signalée variait de 4 à 20 mois. (B. Garin-Bastuji, 2000)

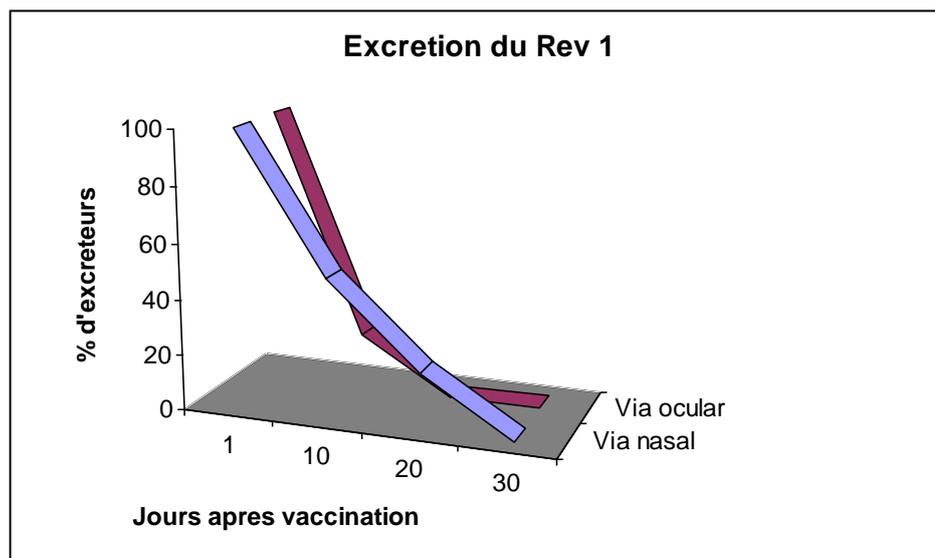
Lorsqu'un programme de lutte par diagnostic/abattage doit être appliqué après un programme de vaccination; où en même temps, il faut utiliser des méthodes de diagnostics très sensibles. Des problèmes pourraient donc se poser, à moins qu'on laisse s'écouler suffisamment de temps entre les deux, ou qu'on utilise une méthode de vaccination avec une faible dose administrée soit par inoculation sous-cutanée, soit par instillation conjonctivale . Il est maintenant bien établi que le vaccin Rev.1 protège les béliers contre une infection à B.ovis. Il peut également être utilisé avec de bon résultats chez les bovins mais son emploi devrait être limité aux zones où B.mélitensis est prévalent chez les petits ruminants. Les personnes utilisant les vaccins Rev.1 et souche 19 doivent prendre de précaution pour éviter les injections accidentelles. De mesures semblables doivent être prises à l'égard de préparation non vivante, en particulier celle qui contient un adjuvant huileux (WHO, 1986).



**Figure 16.** Réponse immunitaire induite par Rev.1 chez les mâles et femelles (vacciné à 3-4 MOIS) (Blasco ; 2008)



**Figure 17 :** Excrétion nasale et oculaire du Rev 1 après la vaccination conjonctivale



**Figure 18 :** Excrétion nasale et oculaire du Rev 1 après la vaccination conjonctivale

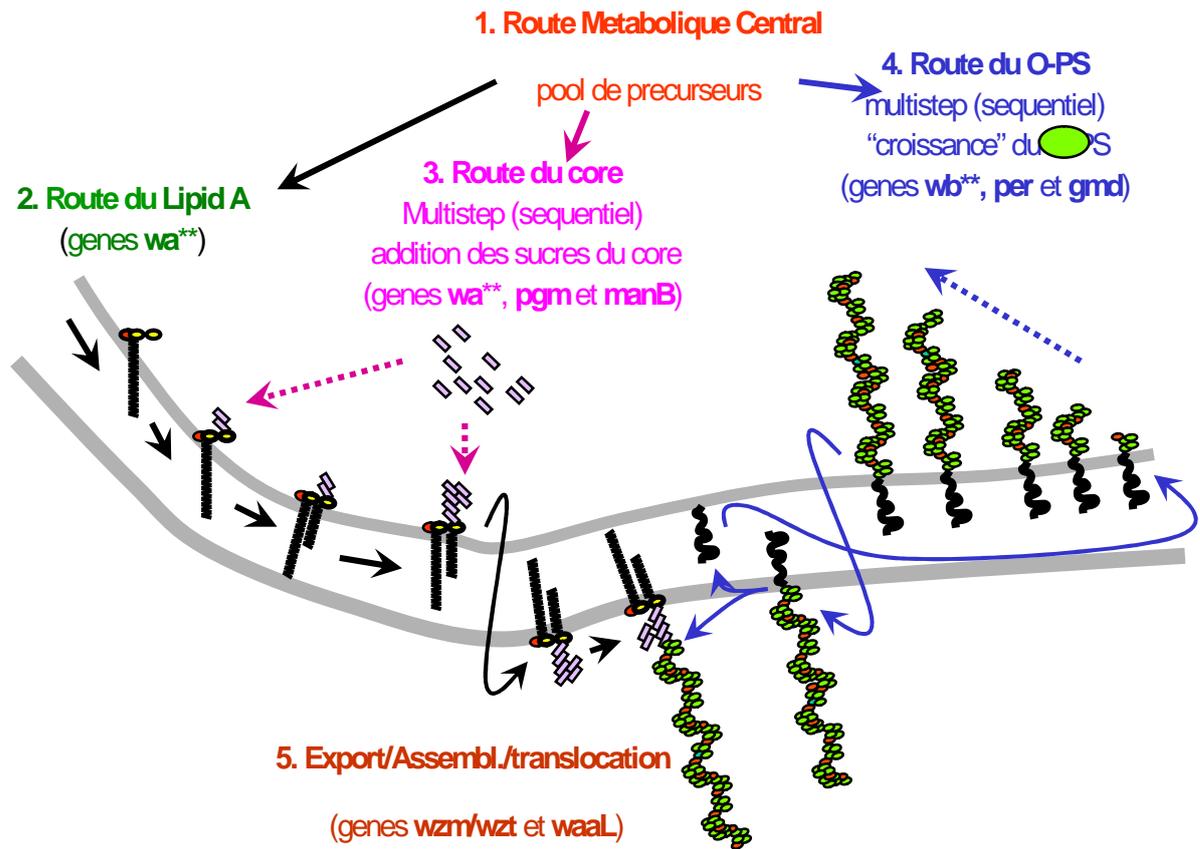
Il est pratiquement déconseillé de vacciner les jeunes animaux, par conséquent la vaccination des adultes est indispensable.

**III.2.6. Avantage de la vaccination des adultes :**

- Immunisation totale de la population avec une seule intervention.
- Si l'on répète à des intervalles réguliers c'est la voie plus économique et efficace pour contrôler la maladie dans des situations endémiques.

**III.2.7. Inconvénient du vaccin Rev1 chez les adultes**

- Réponse sérologique très difficile à interpréter : impossible de combiner avec d'autres programmes d'éradication : Vaccin
- Avortement \ même en utilisant doses réduites (104-107) et indépendamment de la voie de vaccination.
- Dose Réduit \ très faible protection (Fensterbank et al, 1982. Ann. Rech. Vet., 13, 295) \
- Le vaccin avec doses standard pendant dernier mois de gestation /agnelage/lactation/presaillie \ minimise avortements (Blasco JM 1997. Prev Vet Med 51, 275).



**Figure 19** : Biosynthèse du S-LPS: complexe et plusieurs gènes impliqués  
(au moins 5 routes)

**IV.1. Chez les ovins et les caprins :****- Incubation :**

Très variable. L'infection aiguë ne s'accompagne d'aucune atteinte générale et la fréquence des formes inapparentes est plus élevée chez les caprins que chez les ovins. Une forme chronique asymptomatique existe chez les femelles, avec une colonisation du système lymphoréticulaire. Après une première réponse immunitaire, les symptômes et les anticorps disparaissent alors et les animaux restent porteurs asymptomatiques (Djendel. 2000).

**- Symptômes :****- Chez la femelle :**

Ils s'apparentent étroitement à ceux de la brucellose bovine.

**- Atteinte génitale :**

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

En cas de mise bas à terme, la mortalité périnatale est très forte dans les 24 heures suivant la mise-bas. Si le petit survit, il peut devenir porteur chronique. La rétention placentaire est moins fréquente que chez les bovins, mais une stérilité temporaire est couramment observée chez les femelles infectées (Djendel. 2000).

Ce sont les travaux suscités par l'isolement des premières *Brucella* de la rate de soldats décédés à Malte par BRUCE (1887) qui permirent, en 1905, la découverte de la bactérie dans le lait de chèvres apparemment saines, établissant ainsi le rôle de ces animaux dans la contamination de l'homme. Chez la chèvre en effet, l'excrétion mammaire, tout en étant irrégulière, est souvent intense (jusqu'à 2 millions de bactéries par ml de lait). Si on ajoute que la chèvre peut conserver l'agent infectieux une grande partie de sa vie, cela explique la sévérité avec laquelle il faut considérer cette maladie dans l'espèce caprine.



**Figure 20 :** Rétention placentaire chez les ovins (Blasco, 2008)

- **Autres localisations :**

Mammite (elle peut affecter de nombreux sujets et, contrairement aux bovins, peut atteindre ici le stade clinique : formation de nodules inflammatoires ayant le volume d'une noix, lait grumeleux) ; arthrite et bursite rares (Cleon. V, 1988).

- **Chez le mâle :**

L'infection demeure généralement inapparente (il est possible d'observer néanmoins des cas d'orchite, d'épididymite ou une baisse de fertilité) (Cleon. V, 1988).

- **Lésions**

Les plus courantes sont des rétentions placentaires et des endométrites, plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins. Les femelles ayant avorté présentent souvent une métrite suppurative avec des suffusions hémorragiques sur les cotylédons, ainsi qu'une endométrite. Dans le placenta, on peut observer une infiltration gélatineuse jaunâtre, et des fausses membranes fibrineuses, localisées sur une partie ou généralisées. (IVS; 2004).

## **IV.2. Chez l'homme**

- **Incubation :**

8 jours à 3 semaines ; elle correspond à la phase de multiplication de *Brucella* dans les ganglions de la porte d'entrée déterminent ainsi une septicémie et colonisent les cellules du système réticulo-endothélial : ganglions, rate, foie, moelle osseuse, testicules; ... (Philippon .A; 2005). Trois périodes se succèdent :

**- La période septicémique :**

C'est la brucellose aiguë de primo-invasion.

Le début est classiquement progressif et insidieux, rarement brutal. Il est souvent marqué par un tableau pseudo-grippal associant une fièvre, une asthénie, des algies diffuses et un malaise général amenant le malade à consulter.

A la phase d'état, la symptomatologie associe trois symptômes majeurs : fièvre, sueur et algies. La fièvre ondulante est la plus typique mais devenue rare. Elle prend plus fréquemment un aspect en plateau, rémittent, ou pseudo palustre. Elle s'accompagne de sueurs profuses, à prédominance nocturne, d'odeur caractéristique « paille mouillée » et d'algies diffuses à type de céphalée, myalgies et d'arthralgies mobiles et fugaces.

L'état général reste longtemps conservé, l'amaigrissement est tardif. L'examen physique peut montrer une splénomégalie modérée, une hépatomégalie, des adénopathies cervicales et axillaires et des râles bronchiques.

A cette phase, deux localisations viscérales sont évocatrices de la brucellose. Il s'agit de l'orchépididymite et de la sacro-iliite. A côté de cette forme, la majorité des brucelloses aiguës peuvent être asymptomatiques ou pauci symptomatiques.

Les formes pseudotyphoïdiques réalisent un tableau proche de la fièvre typhoïde. Les formes polyviscérales malignes, de mauvais pronostic, s'observant chez les sujets tarés et immunodéprimés sont devenues exceptionnelles. Chez la femme enceinte, la brucellose peut être responsable d'avortements, d'accouchements prématurés et de mort in utero. Chez les sujets infectés par le virus de l'immunodéficience humaine, la maladie ne présente pas de particularités cliniques. L'évolution spontanée de la forme commune se caractérise par la persistance de la fièvre, de l'asthénie et des sueurs pendant quelques semaines et la possibilité de survenue de localisations secondaires qui font toute la gravité de la maladie (Frobisher.M et Furest. R, 1975).

**- Brucellose focalisée secondaire et tardive :**

(20 à 40% des cas). L'évolution spontanée de la brucellose se caractérise par la possibilité de survenue de localisations secondaires, ou brucellose localisée, qui fait la gravité de la maladie. Après plusieurs mois d'évolution (6 mois).

**- Localisations :**

Ostéo-articulaires, les plus fréquentes (75% des cas) : polyarthrites, surtout spondylodiscites et sacro-iliites de diagnostic radiologique tardif, d'où l'intérêt du scanner et de l'IRM,

Cardiaques : péricardite, myocardite, surtout endocardite, localisation la plus préoccupante, habituellement sur valvulopathie préalable,

Neurologiques : méningite, méningo-encéphalite, arachnoïdite, myélite, atteinte des nerfs crâniens ou périphériques, abcès cérébraux ou cérébelleux,

Hépatique : abcès hépatiques, hépatite granulomateuse,

Uro-génitales : orchi-épididymite, salpingite, endometrite, abcès tubo-ovariens, pyélonéphrite,

La mise en évidence d'un foyer nécessite la recherche d'autres foyers : échographie abdominale, échographie cardiaque, scanner (ou IRM) rachidien et cérébral.

**- Brucellose chronique afocale :**

Précédée d'une brucellose aiguë, et après une longue évolution (plus d'un an), elle associe asthénie, fébricule, sueurs avec bon état général: c'est la « patraquerie brucellienne ».

**V. 1. Diagnostic non spécifique :**

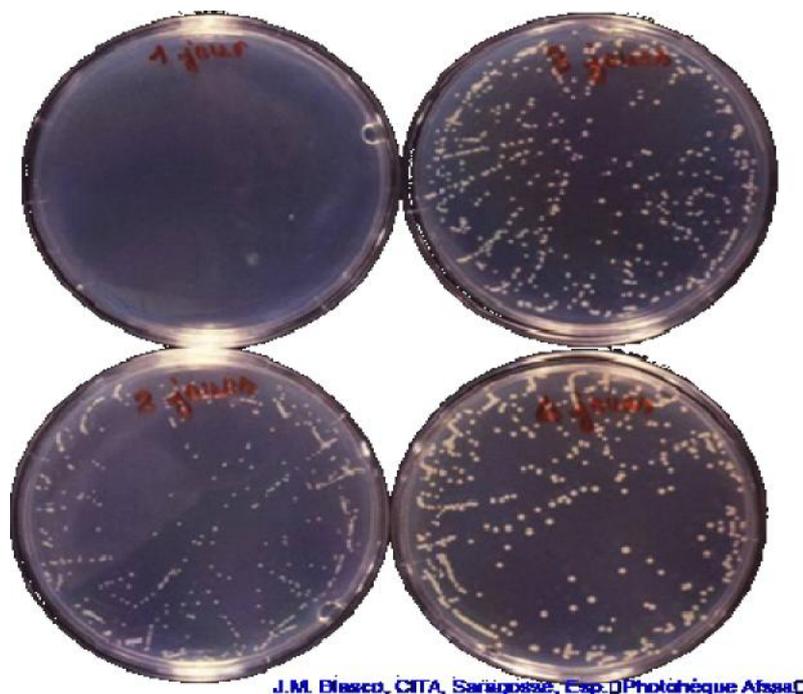
Suspecter systématiquement la brucellose en présence d'avortements ou d'atteinte des organes génitaux mâles. En réalité, seul un recours au laboratoire permet un diagnostic de certitude de brucellose (Cleon. V, 1988).

**V.2. Diagnostic spécifique :****V.2.1. Identification de l'agent pathogène (isolement des brucelles par cultures) :****V.2.2.1 La mise en évidence du germe :**

L'isolement de *Brucella* en culture demeure la technique de référence pour établir un diagnostic de certitude. Devant une suspicion de brucellose, le laboratoire doit être averti de la demande de mise en culture des produits pathologiques du fait de certaines exigences de la bactérie :

- Utilisation de milieux enrichis au sang,
- Température optimale de 34 à 37°C,
- Atmosphère enrichie à 10% de CO<sub>2</sub> pour *B. abortus*,
- Temps d'observation prolongé des cultures. »

Et surtout du risque élevé de contamination du personnel. Les cultures de *Brucella* doivent être réalisées en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (Frobiher .M et Fuerst. R, 1975).



**Photo 01 :** Culture des espèces de *Brucella*

## **V.2.2. Épreuves sérologiques :**

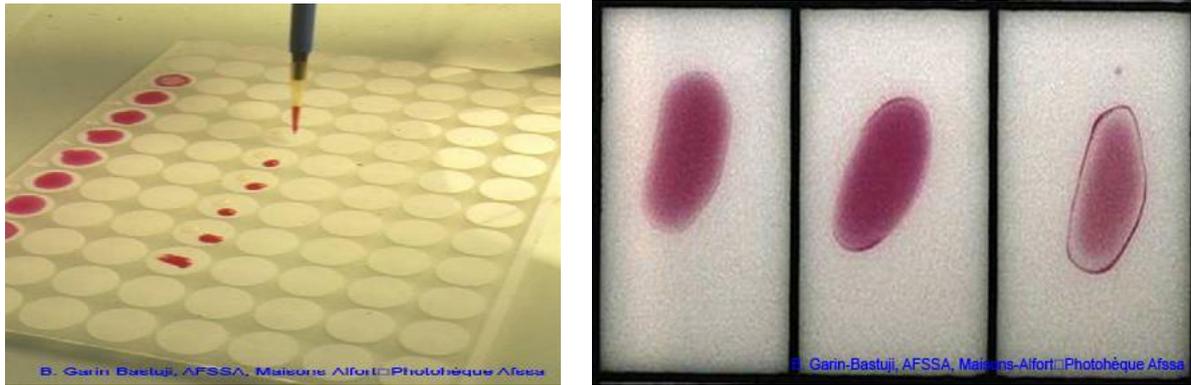
### **V.2.2.1. Le rose Bengale et la réaction de fixation du complément :**

Lorsque la bactériologie ne peut être mise en œuvre, le diagnostic de l'infection brucellique peut reposer sur la sérologie. En routine, les anticorps anti-Brucella sont recherchés dans le sérum sanguin. Le dépistage sérologique se pratique seulement à partir de prélèvements sanguins réalisés individuellement sur les ovins et caprins de 6 mois et plus. Par conséquent, la période la plus favorable au dépistage sérologique se situe après l'agnelage, au moment où on obtient une élévation des titres en anticorps (Cleon. V, 1988).

Les épreuves sérologiques les plus largement utilisées pour le diagnostic des infections à Brucella lisses chez les ovins et les caprins sont les épreuves à l'antigène tamponné de Brucella (Buffered Brucella Antigen Tests ou BBATs), c'est à dire l'épreuve du Rose Bengale (RB, dénommée plus communément épreuve à l'antigène tamponné ou EAT) ou le Card-test, qui sont sensiblement identiques et le test de fixation du complément (FC). Chez les petits ruminants, l'EAT et la FC sont les méthodes les plus largement utilisées et constituent les seules épreuves prescrites pour les échanges internationaux.

La Réaction de Rose Bengale n'a pas une spécificité absolue mais est adaptée au dépistage de masse des troupeaux infectés ou pour garantir l'absence d'infection dans les troupeaux indemnes. Cependant, du fait du relatif manque de sensibilité des deux épreuves, des discordances de résultats entre EAT et FC sont fréquentes chez les ovins et caprins infectés. Aussi, de manière à augmenter la probabilité de détection des animaux infectés et d'améliorer le contrôle de l'infection par assainissement dans les zones en cours d'éradication, les résultats des deux épreuves doivent-ils être interprétés en parallèle.

Par ailleurs, il est impossible de différencier les anticorps induits par le vaccin REV.1 de ceux induits par une infection naturelle. Aussi, le contexte vaccinal du troupeau doit-il être pris en considération lors de l'interprétation des résultats sérologiques. De plus, ces deux épreuves ne sont pas suffisamment spécifiques pour permettre de différencier des réactions sérologiques dues à *B. melitensis*, de réactions sérologiques faussement positives (RSFP) liées à des bactéries croisant au plan antigénique telles que *Yersinia enterocolitica* O:9.



**Photo 02 :** Epreuve à l'antigène tamponné (le Rose Bengale)

#### **V.2.2.2. Test de Wright (Séro-agglutination)**

C'est le diagnostic le plus précocement positif car il met en évidence les IgM et IgG (Flandrois, 1997).

Nous employons *Brucella Abortus Bovis*, il y a une réaction croisée avec *Brucella melitensis* (chèvre) et *Brucella suis* (porc). De même on note de fausses agglutinations due à la parenté antigénique entre les *Brucella* et d'autres bactéries ; tels que les cas chez les sujets vaccinés contre le choléra ou infectés par *Yersinia enterocolitica* biotype 9, ou par *Francisella tularensis* (Le Minor et Verron, 1989).

Les taux significatifs à partir de 1/80 (100/UI) (Obre et Buttiaux, 1983). Les anticorps apparaissent dès le 7ème jour et persistent longtemps. La technique nécessite plus de 18 h.

La séro-agglutination de Wright est souvent complétée par l'épreuve à l'antigène tamponné qui, bien que qualitative, a l'avantage d'être plus positive et pendant longtemps. (Flandrois, 1997).

#### **V.2.2.3. L'immunofluorescence indirect :**

Elle a un intérêt majeur dans le dépistage des brucelloses chroniques. Si la réaction de Wright est négative. Le taux significatif est supérieur au 1/100. Elle ne donne pas de réactions croisées avec les sérums des sujets vaccinés contre le choléra, mais en donner avec les malades atteints de tularémie ou infectés par *Yersinia enterocolitica* biotype 9 (FERRON et al, 1984).

**Tableau 07** : Conduite de diagnostic biologique aux divers stades de la maladie (Ferron et al, 1984)

Diagnostic biologique		Brucellose aiguë		Brucellose focalisée subaiguë	Brucellose chronique
		Avant 2 <sup>ème</sup> semaine	2 <sup>ème</sup> - 3 <sup>ème</sup> semaine		
Diagnostic direct	hémoculture	+	+	+	-
	Prélèvement sanguin			+	-
Diagnostic indirect	Wright 1/40	-	+	++	-
	RFC >	-	±	++	±
	IF	-	+	++	±
	IDR	-	-	+	+++

**V.2.2.4. ELISA :**

Le test ELISA (acronyme d'Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser une protéine dans un liquide biologique (Benkirane, 2004).

- **Divisé en ELISA indirect et ELIA compétitive :**

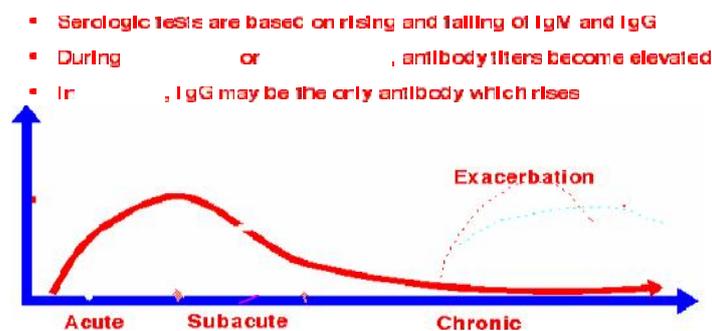
De bons résultats ont été obtenus en matière de diagnostic chez les ovins et les caprins avec les méthodes immunoenzymatiques (ELISA) indirects ou de compétition, en utilisant divers antigènes, les plus fiables étant celles utilisant des antigènes à forte concentration en lipopolyside lisse (LPS-S). Ces ELISA présentent une sensibilité analogue ou meilleure que celle de l'EAT et de la FC, mais comme les épreuves classiques, les ELISA sont incapables de différencier les animaux infectés de ceux récemment vaccinés au REV.1 ou des animaux infectés par des bactéries croisant au plan antigénique. Une protéine périplasmique hautement immunogène de *B. abortus* et *B. melitensis* a été utilisée pour le diagnostic de la brucellose dans différentes espèces hôtes. Des ELISA indirects et de compétition utilisant cet antigène seraient sensibles et spécifiques pour le diagnostic de l'infection à *B. melitensis* chez le mouton et a été rapportée comme utile dans la différenciation des animaux infectés de ceux vaccinés au REV1 . Tous ces ELISA ont des avantages potentiels en sensibilité et spécificité par rapport à l'EAT et à la FC, mais un important travail est encore nécessaire pour la standardisation des réactifs avant qu'ils puissent être utilisés pour le diagnostic de l'infection à *B. melitensis* chez les ovins et caprins (Aggad, 2004).

- Le test ELISA peut être utilisé pour tester le lait et le sérum. C'est un test très sensible et qui reste longtemps positif; il peut être utilisé dans les procédures de dépistage ou comme test de confirmation pour la détection des (IgA, IgG, IgM) (Hatami H. MD. MPH 2007).
- **ELISA test can distinguish acute cases from chronic cases**
- **In ELISA test cross reaction can occur with yersiniosis**

#### V.2.2.5. Action des tests sérologique en fonctions des stades de la brucellose :

- Le test sérologique sont fondés sur l'élévation et la baisse des IgM et IgG
- Le taux des anticorps s'accroît (seuls les IgG) au cours de réinfections ou d'aggravations.

### DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS



**Figure 21:** Les IgM dans la brucellose aigue

- Apparition de IgM au cours de la première semaine, arrivent à leur pic dans les trois premiers mois, se régissent après jute après.

### DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS



**Figure 22 :** Elévation du taux des IgM durant la brucellose aigue (Hatami H. MD. MPH (2007).

**Les IgG :** Il commence à augmenter dans la deuxième semaine restent élevés pendant 1 an chez les patients vaccinés.

## DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS



**Figure 23 :** Persistance des IgG

### V.2.2.6. Les anticorps détectés par les tests sérologiques :

**Tableau 08 :** Anticorps détectés par les tests sérologiques

Tests	Anticorps détectés
STA	IgM + IgG
2ME	IgG
Coombs	1) If STA is negative and disease is chronic then only IgG 2) If STA is positive, IgM + IgG
C.F	IgG
ELISA	IgG & IgM separately

### V.2.2.7. Épreuve cutanée allergique à la brucelline

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

L'épreuve cutanée allergique (ECA) à la brucelline dispose d'une sensibilité élevée pour le diagnostic de l'infection à *B. melitensis* chez les petits ruminants et, en l'absence de vaccination, est considérée comme l'une des épreuves de diagnostic les plus spécifiques.

Cependant, malgré cette forte sensibilité, certains animaux infectés ne présentent pas de réaction positive et, de plus, les animaux vaccinés au REV.1 peuvent présenter une réaction à cette épreuve pendant des années. Ceci conduit à ne pas recommander cette épreuve comme

épreuve unique de diagnostic ou pour le contrôle lors des échanges internationaux (ERIC D et al 2007).

Pour obtenir des résultats fiables, il est impératif d'utiliser une préparation de brucelline standardisée, ne contenant pas de LPS-S. Autrement, elle pourrait induire des réactions inflammatoires non spécifiques ou interférer avec les épreuves sérologiques mises en œuvre par la suite. La Brucelline-INRA qui est préparée à partir d'une souche rugueuse de *B. melitensis* répond à ces exigences et une préparation commerciale équivalente est disponible.

#### **V.2.2.7.1. Protocole**

- i) 0,1 ml de brucelline est injecté en intradermique dans la paupière inférieure.
- ii) La lecture est effectuée après 48 h.
- iii) Toute réaction visible ou palpable d'hypersensibilité, telle qu'une réaction œdémateuse entraînant une élévation de la peau ou un épaissement de la paupière ( 2 mm) doit être interprétée comme une réaction positive. (Réactions souvent très intenses chez les caprins).

Bien que l'épreuve cutanée allergique à la brucelline soit l'une des épreuves les plus spécifiques en brucellose (chez les animaux non-vaccinés), le diagnostic ne devra pas se limiter à l'observation de réactions positives, mais prendre également en compte les résultats des épreuves sérologiques. L'inoculation intradermique de brucelline peut induire une anergie temporaire (baisse de la réponse cellulaire). Aussi est-il généralement recommandé de laisser un intervalle de 6 semaines entre 2 épreuves sur le même animal (Gorvel J-P (2004).

**VI.1. Traitement :****VI.1.1. Traitement curatif :****- Chez l'animal :**

On ne peut envisager un traitement curatif de la brucellose, car cette maladie entraîne l'abattage. Toutefois, dans un troupeau infecté, on peut utiliser des traitements considérés comme susceptibles d'empêcher l'avortement. Dans ce cas l'antibiothérapie est le seul traitement efficace dans la brucellose aiguë et la brucellose subaiguë focalisée (Cazenav, 1972).

**- Chez l'homme :**

Le traitement curatif de la brucellose repose essentiellement sur l'antibiothérapie. Son but est de traiter la maladie et d'éviter la survenue de complications et de rechutes.

**Tableau 09 : Activité des principaux antibiotiques**

Familles)	Molécules	CMI (mg/l)	Activité
Cyclines	Oxytétracycline	0.001-0.6	Activité bactéricide. Antibiotiques actifs au pH acide des phagolysosomes
	Doxycycline	0.01-0.25	
Aminosides	Streptomycine	0.5-8	Rapidement bactéricides. Antibiotiques surtout actifs en secteur extracellulaire. Synergique en association avec les cyclines.
	gentamycine	0.25-1	
Rifamycines	Rifampicine	0.5-2	Bonne diffusion tissulaire et intracellulaire. Activité bactéricide en intracellulaire et en pH acide. Synergique en association avec les cyclines.
Sulfamides	Triméthoprim sulfaméthoxazole	0.4-12.5	Bonne diffusion intracellulaire uniquement pour le triméthoprim. Activité variable en fonction des souches testées.
Fluoroquinolones	Ofloxacin	0.3-2.5	Bonne diffusion tissulaire et intracellulaire. Diminution nette de leur activité et faible pouvoir bactéricide en pH acide.
	ciprofloxacine	0.5-2.5	

L'expérience clinique a permis de montrer que la prescription d'une monothérapie et/ou d'un traitement de courte durée s'accompagne d'un taux élevé d'échecs thérapeutiques

et de rechutes à l'arrêt du traitement. De ce fait, l'antibiothérapie de la brucellose repose obligatoirement sur une association d'antibiotiques pendant une durée prolongée afin d'éviter les rechutes.

**Tableau 10 :** Propositions thérapeutiques

Stades de la maladie et terrains	Protocoles thérapeutiques	Durée du traitement
Brucellose aiguë	cycline+aminoside <u>ou</u> cycline+rifampicine	45 jours (14 à 21 jours pour la streptomycine, 7 jours pour la gentamicine, 21 à 45 jours pour la rifampicine)
Brucellose ostéo-articulaire	cycline+rifampicine+aminoside	3 à 6 mois (21 jours pour la streptomycine, 8 à 15 jours pour la gentamicine).
Endocardite brucelienne	cycline+rifampicine+aminoside	6 à 12 semaines (21 à 30 jours pour la streptomycine, 15 jours pour la gentamicine). Durée plus longue si prothèse valvulaire.
Brucellose neuroméningée	rifampicine+cotrimoxazole+aminoside <u>Ou</u> rifampicine+fluoroquinolone+aminoside	8 à 12 semaines (21 jours pour la streptomycine, 8 à 15 jours pour la gentamicine).
Femme enceinte	Rifampicine seule <u>ou</u> rifampicine+cotrimoxazole	45 jours. Arrêt du cotrimoxazole 8 à 15 jours avant terme.
Enfant < 08 ans	Cotrimoxazole+ rifampicine <u>ou</u> cotrimoxazole+aminoside	45 jours (21 jours pour la streptomycine, 7 jours pour la gentamicine,)
Sujet âgé	cycline+rifampicine	45 ours

## VI.2. Prophylaxie

Le plus souvent, la lutte contre les zoonoses a pour objectif la protection de la santé publique. Le niveau et les modalités d'action doivent dépendre, d'une part, des conséquences de la maladie chez l'homme (gravité et fréquence) et, d'autre part, des éléments d'épidémiologie analytique propres à l'infection (Barbara .D et Marc .S, 2007).

Les programmes de surveillance et de lutte mis en œuvre dans les différents pays n'ont enregistré que de succès limités ou se sont révélés vains.

En outre, le programme méditerranéen de lutte contre les zoonoses qui contribuent à la protection de la santé publique et au développement socio-économique dans cette partie du monde. Ses objectifs prioritaires restent limités, car de nombreuses maladies émergentes sont des zoonoses.

La brucellose humaine transmise à partir des animaux de la ferme tel que les bovins, les moutons et les chèvres est considérée comme l'une des zoonoses les plus répandues du monde et est rapportée dans au moins 56 pays (Aggad, 2004).

Dans ce contexte, Diverses stratégies ont été adoptées, séparément ou conjointement pour le contrôle puis l'éradication des brucelloses animales.

Deux stratégies prophylactiques peuvent permettre de maîtriser les maladies animales réputées contagieuses : les mesures dites médicales (chimioprévention et surtout vaccination) et les mesures dites sanitaires qui doit éviter la contamination des animaux sains (mesures défensives) ou éliminer l'agent pathogène en cause (mesures offensives). Le plus souvent, une lutte efficace combine ces mesures en tentant de contrôler la source de l'agent pathogène, ses modes de transmission et ses hôtes réceptifs (Tableau 10).

### VI.2.1. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants

**Tableau 11:** Stratégie de contrôle de la brucellose en fonction de la situation épidémiologique (BENKIRANE, 2001).

Situation épidémiologique	Stratégie de contrôle et mesures d'accompagnement	Méthode de surveillance	Résultats recherchés
A. *prévalence élevée chez les animaux. *Incidence clinique élevée chez les humains	*Vaccination de masse *Appui aux services vétérinaires *Utilisation rationnelle des ressources *Contrôle des déplacements	Sérologie décevante (tests appropriés) Bactériologie Suivi de l'incidence chez l'homme	Passer à B
B. Prévalence modérée	Prophylaxie mixte	*Recensement et identification des animaux *Contrôle sérologique *Suivi bactériologique *Communication active *Coopération avec le ministère de la santé	Passer à C
C. Prévalence faible <1%	Prophylaxie sanitaire	*Surveillance dans les étables et aux abattoirs *Suivi sérologique *Enquête dans les groupes cibles	Atteindre D
D. Absence de la maladie	Contrôle les mouvements	Surveillance des indicateurs de risque	Maintenir cet état

### **VI.2.2. Prophylaxie sanitaire :**

#### **- Eradication par diagnostic/abattage:**

##### *Dépistage sérologique*

La prophylaxie sanitaire repose sur un dépistage essentiellement immunologique des animaux infectés. Les épreuves sérologiques : le Rose Bengale, la séro-agglutination lente en tubes, Fixation du complément, le test immunoenzymatique (ELISA) compétitif qui est actuellement disponible pour le diagnostic de la brucellose à *B. abortus*. Néanmoins son utilisation nécessite encore d'être correctement validée et standardisée. Des tentatives d'adaptation de ce test à l'infection à l'aide de *B. melitensis* sont actuellement en cours. (BENKIRANE, 2001). Ces tests sérologiques sont les plus utilisés, ils détectent les anticorps dirigés contre le lipopolysaccharide de surface (LPS-S) des souches de *Brucella* de type lisse.

L'épreuve cutanée allergique révèle l'état d'hypersensibilité de type retardée induite, tant chez l'homme que chez l'animal, par la brucellose. L'emploi simultané des épreuves sérologique et allergique améliore le dépistage et permet d'accéder plus rapidement à l'éradication (INRA)

##### *Assainissement des troupeaux infectés :*

L'assainissement passe par deux actions complémentaires, c'est-à-dire, Isolement et élimination précoce de tous les ovins reconnus infectés associés à une destruction du germe éventuellement présent dans l'environnement (désinfection des locaux d'élevage, destruction des matières virulentes...).

Toutefois, compte tenu en particulier de la taille parfois importante des troupeaux et des particularités de l'élevage ovin ou caprin, il faut souligner qu'un résultat définitif ne peut être espéré que si les conditions suivantes sont réunies:

- taux d'infection faible au moment du dépistage (c'est-à-dire infection récente),
- renouvellement fréquent des contrôles (tous les mois par exemple), avec élimination immédiate des positifs,
- cheptel à l'abri des contaminations exogènes (pas de transhumance, pas d'échange de béliers, etc.).

Mais, même dans ce cas, l'assainissement peut être un travail de longue haleine. Lorsque ces conditions ne sont pas réunies, notamment lorsque le taux d'infection est élevé au départ, la seule solution efficace consiste à envisager l'élimination en bloc du troupeau.

- **Protection des troupeaux indemnes :**

Elle passe par le contrôle des introductions d'animaux (issus d'élevages indemnes), le contrôle de la transhumance (l'idéal étant de l'interdire aux troupeaux infectés) et le contrôle sérologique et/ou allergique régulier des cheptels. (MERIAL, 2004).

**VI.2.3. Prophylaxie médicale:**

La prophylaxie médicale est justifiée dans les régions fortement infectées car elle représente la seule méthode économiquement utilisable de lutte contre la brucellose. Elle peut aussi compléter efficacement la prophylaxie sanitaire lorsque la prévalence de l'infection des troupeaux s'avère trop importante, et surtout lorsque le brassage important des animaux par transhumance rend son application difficile. Elle est en revanche à proscrire en région indemne ou peu infectée (merial)

- **La vaccinothérapie:**

La prophylaxie médicale repose sur l'augmentation de la résistance des animaux à la maladie. Elle est basée sur l'immunité active (vaccination) qui peut diminuer sa prévalence et la maintenir à un niveau bas. Celle-ci ne peut pas prétendre à l'éradication. (Blood et Anderson, 1976).

- **Vaccin Rev1 :**

Ce vaccin contient une souche atténuée de *Brucella melitensis*. La souche REV1 a été très soigneusement essayée et contrôlée sur le terrain (Blood et Anderson, 1976). Employé pour immuniser les ovins et les caprins contre l'infection à *Brucella melitensis*. Ce vaccin a des caractéristiques analogues à celle du vaccin souche 19 chez les bovins. Par conséquent, il demeure le vaccin de choix, il est le plus efficace et le plus largement utilisé dans le monde chez les petits ruminants. Son utilisation est recommandée à la dose de 109 CFU.

Il induit malheureusement, dans ces conditions, une réponse sérologique d'autant plus durable que la vaccination est pratiquée à un âge avancé, ce qui restreint celle-ci aux jeunes animaux, tout en sachant que chez 1 à 2% d'entre eux, néanmoins, les anticorps persisteront jusqu'à l'âge adulte. Il y a donc incompatibilité entre un usage indiscriminé du vaccin Rev.1 par la voie classique sous-cutanée, à la dose standard, et une politique d'éradication par abattage des animaux réagissant aux épreuves du diagnostic sérologique de la brucellose (INRA).

Par conséquent, pour éviter d'induire de réactions sérologiques qui interféreront avec le diagnostic ultérieur. On ne vaccine généralement que les agneaux et les jeunes âgés de 3 à 8 mois. Cette limitation fait que la vaccination n'a qu'un faible impact immédiat sur la

prévalence de la maladie. Pour surmonter ce problème, la première année d'un programme de vaccination, il est possible de vacciner l'ovin et le caprin adulte avec une dose réduite ( $10 \times 10^4$  cellules viables) de Rev1. Il est préférable de limiter l'utilisation de vaccin à une saison pendant laquelle il y a peu ou pas de femelles gravides. Les agneaux et les jeunes immunisés avec le vaccin Rev1 pourront, à l'état adulte, subir des épreuves sérologiques à de fin d'éradication, à condition d'utiliser la RFC (FAO, 1986).

- **Le vaccin B19**

Le vaccin le plus répandu est la souche B19. Ce vaccin provoque une forte immunité qui est durable, mais il présente plusieurs inconvénients : on l'injecte au cours de deux mois précédant la période de lutte; la fertilité des béliers est souvent réduite. Un titre d'agglutinine persiste jusqu'à 3 ans ce qui, obscurcit le diagnostic et empêche l'éradication ultérieure. Des enzooties d'ostéomyélite peuvent éclater 10 à 20 jours après la vaccination; les béliers sont faibles et boitent de l'un des membres, et de nombreux sujets restent couchés (Blood et Anderson, 1976).

- **Le vaccin 45/20:**

C'est une souche rugueuse 45/20 des bactéries *Brucella abortus*, non virulente et non agglutinogène (Hamdi, 2000). Ce vaccin trouve son application dans l'exploitation menacée de contamination. La vaccination sera limitée aux animaux non infectés dont l'identification aura été préalablement établie par les tests sérologiques (Derivaux et Ectors, 1980). Ce vaccin peut être utilisé pour les bovins, ovins et caprins lorsqu'on l'emploie chez des veaux de six mois et davantage l'immunité qu'il provoque est de bonne qualité (EL-Bachâane, 2000).

- **Le vaccin H38 :**

Le vaccin H38 confère une immunité efficace et peut être administré quels que soient l'âge et l'état de gestation des animaux. On peut l'utiliser chez les agneaux et les adultes, ce qui permet d'immuniser rapidement un cheptel et donc de réduire le nombre d'avortements et la propagation de l'infection. Ce vaccin a toutefois l'inconvénient de donner lieu à de graves lésions locales et d'induire des réactions sérologiques persistant pendant de longues périodes; son utilisation est donc incompatible avec les programmes de lutte par diagnostic/abattage, ce qui le rend inacceptable dans la plupart des pays.

**VI.2.4. Prophylaxie mixte:**

Celle-ci associe successivement ou simultanément les deux modes d'abattage et de vaccination.

### **VI.2.5. Mesures générales:**

Que l'on mette ou non de programmes de vaccination et/ou d'éradication, certaines mesures de lutte générale, valables pour toutes les espèces, aident à réduire la propagation de l'infection.

1. on a montré que l'isolement au cours de la parturition était une mesure de lutte efficace. elle implique l'installation de talles de vêlage ou d'agnelage séparées et suppose ainsi que la personne qui s'occupe des animaux soit capable de reconnaître l'imminence d'un avortement.
2. dans un troupeau infecté toute parturition doit être considérée comme une source potentielle d'infection et les produits non vivants devraient si possible incinérés ou si non enterrés profondément le sac en plastique très épais utilisés en agriculture ont pratique pour transporter des produits potentiellement contaminés devront être désinfecté avant d'être balayés ou lavée au jet.
3. agir sur les mouvements incontrôlés des troupeaux « la protection sanitaire d'un pays s'exerce aux frontières » les animaux doit être certifiés pour la brucellose, ce qui n'empêche pas de refaire des examens complémentaires sur ces animaux (Anonyme ,1992).
4. gérer au mieux les ressources disponibles ; par exemple en associant la vaccination anti-brucellique à d'autres programmes prophylactiques. (Benkirane, 2001).

#### **VI.2.5.1. Prophylaxie chez l'homme :**

La prophylaxie de la maladie humaine passe nécessairement par celle de la maladie animale.

Elle apportera une indication fiable sur le succès obtenu en prophylaxie animale elle permettra de mesurer l'efficacité de la vaccination de masse chez les animaux (Ferron et al, 1984).

Les mesures humaines reposent sur la déclaration obligatoire de la maladie, l'hygiène des manipulations (port de gants, lavage des mains), l'éducation sanitaire et la consommation de produits laitiers pasteurisés.

La vaccination des personnes exposées par fraction PI est actuellement Abandonnées (chakroune).

#### **VI.2.5.2. Education sanitaire et formation:**

La lutte contre la brucellose devrait présenter un intérêt économique évident pour le fermier et autres personne vivant de productions animales malheureusement, en pratique, la perspective de perte immédiat; par élimination des animaux infectés et les inconvénients

engendrés par la vaccination et les contrôles répétés peuvent l'emporter, aux yeux du fermier, sur les avantages à long terme de la lutte. Il est par conséquent nécessaire d'expliquer à toute les personnes concernée les raisons et les avantage du programme de lutte, en particulier les intérêts économiques durables et l'élimination du risque grave pour la santé humaine, y compris pour la santé du fermier, de sa familles et des autres employés de la ferme. C'est ce travail qui continue le but principal de l'éducation sanitaire dans le cadre de programme de lutte contre la brucellose. Parmi les autres taches importantes de l'éducation sanitaire figurent:

1. la diffusion de l'information sur les différentes phases du programme et sur les opérations en cour
2. la motivation des propriétaires d'animaux, des personnes qui s'occupent des animaux, des employés de l'industrie alimentaire et du grand public,
3. afin qu'il participe aux parties appropriées du programme.
4. l'information des personnes exposées et de celles qui rendent dans des zones d'endémie sur les mesures à prendre pour se protéger
5. l'information des pouvoirs publics, des hommes politiques et des autres personnalités dirigeantes, afin de s'assurer de leur soutien continu au programme (WHO, 1986).

L'éducation sanitaire est donc étroitement liée aux différentes phases du programme de lutte et ne doit pas être envisagée comme une activité indépendante.

Outre les mesure spécifiques décrites ci dessus, et en particulier lorsque n'y a pas des programmes de lutte national, il et possible de prendre certains mesures visant à motiver les éleveurs à lutter contre la brucellose chez les animaux et se protéger eux même. En premier lieu certains groupes de personnes sont considérées comme exposées de par leur profession : vétérinaire, agent de santé animales, d'abattoirs et personnes qui 'occupent des animaux dans les exploitations infectées. Deuxièmement il est nécessaire de diffuser des informations sur les méthodes de propagation de l'infection brucellienne. Le contact avec les animaux infectés et leur produit de parturition et la consommation des produits non traités constituent la principale source de l'infection humaine. Troisièmement, il faut sensibiliser la population au moyen de lutte chez les animaux, c'est-à-dire qu'il faut qu'elle sache que l'on peut éradiquer à l'aide d'un moyen planifier de diagnostic et d'élimination de animaux infectés (Aggad, 2004).

**VI.6. Prophylaxie de la brucellose chez les petits ruminants en Algérie :****VI.6.1. Definition et Réglementation :**

Zoonose majeure, sévit à l'état enzootique ;

Maladie à déclaration obligatoire (Décret 95-66 modifié et complété.....)

Loi 88-08 du 26/01/1988 relative à la médecine vétérinaire;

Arrêté interministériel du 26/12/1995 fixant les mesures de prévention et de lutte spécifique à la Brucellose ovine et caprine ;

Arrêté n°245 du 13/06/2005 ordonnant la vaccination contre la Brucellose des animaux de l'espèce ovine et caprine

Instruction ministérielle n°342 du 21/05/2006 relative à la prophylaxie médicale contre la Brucellose chez les petits ruminants.

En Algérie, nous sommes dans une période transitoire où nous passons du dépistage à la vaccination chez les petits ruminants. La vaccination sera élargie pour couvrir tout le territoire national. (Boughalem.2007)

Néanmoins, il faut noter quelques problèmes qu'on peut rencontrer au cours du déroulement de cette opération :

- Le nombre élevé de l'espèce caprine et ovine, l'élevage à domicile non déclaré, ce qui cause un véritable problème pour les vétérinaires praticiens ;
- L'existence de la brucellose chez les Ovins est certaine, mais pas évaluée par absence d'indemnisation, favorisant la présence d'un Réservoir animal non négligeable et incontrôlable.

**VI.6.2. Prophylaxie médicale:****VI.6.2.1. Programme de vaccination (2006):**

Une première campagne de vaccination a été réalisée en 2006. L'effectif vacciné "3.359.259" ovins et caprins.

La vaccination a été réalisée en (juin - juillet), la deuxième était en (novembre et décembre). Les Wilayas concernées sont : Tébessa, Biskra, M'Sila, Laghouat, Khenchela, Djelfa, Batna, Médéa, Oum El Bouaghi, Tiaret et Ghardaïa. L'opération a été pratiquée par les praticiens exerçant à titre privé et mandatés.

Une deuxième campagne de vaccination lancée fin 2007/début 2008.

Le Pré-bilan : ( 3.518.895) ovins et caprins. Mêmes Wilayates qu'en 2006.

**VI.6.2.2. Contraintes rencontrées:****Démarrage difficile de la campagne:**

- Après les grandes campagnes de prophylaxie officielles,
- Peu de praticiens mandatés... ;
- Retard de réception des boucles d'identification;
- Réticence des éleveurs à adhérer à ce programme compte tenu de sa nouveauté.

**VI.6.3. Mesure de lutte contre la Brucellose humaine et animale :****- *Rôle de la santé:***

Dépistage et prise en charge des cas.

Education sanitaire aussi bien pour les personnes exposées que pour la population générale.

Déclaration des foyers infectés à l'inspection Vétérinaire.

**- *Rôle de l'inspection vétérinaire:***

Dépistage actif des cas Caprins et Bovins.

Déclaration des foyers infectés au Service de prévention.

Suivi de l'abattage des animaux infectés.

Accélérer les modalités d'indemnisation (car le retard actuel d'indemnisation pose un problème chez les éleveurs les incitant à éviter l'abattage à tout prix).

**- *Rôle de la commune:***

Suivi de l'abattage des animaux infectés, en responsabilisant les forces de sûreté pour l'application de cette mesure indispensable.

Contrôle des vendeurs de lait et dérivés, nécessité du certificat confirmant l'absence de contamination des animaux fournisseurs (à renouveler tous les trois mois).

Interdire l'abattage clandestin.

## **I.1. Conditions expérimentales :**

### ***a. Lieu et durée d'étude :***

Notre étude a été réalisée dans la wilaya d'El-Bayadh où nous avons touché trois communes : Brezina, Bougtoub, Ghassoul.

Les études sont déroulées durant la période du 12/07/2012 au 18/09/2012.

### ***b. Objectif de l'étude :***

Compte tenu de la menace que représente la maladie pour la santé des consommateurs.

L'éradication de la maladie s'opère généralement sur la base d'un programme de vaccination initial destinée à ramener le niveau de la maladie active présent au sein d'une population à un niveau gérable. Par ailleurs, nous tracerons les objectifs suivants :

1. Détection de la réponse immunitaire induite chez les animaux vaccinés.
2. La durée de vie des anticorps en fonction de plusieurs facteurs en l'occurrence : l'âge, sexe...
3. Tracer les grandes lignes de prophylaxie de la brucellose à *Brucella melitensis*.

### ***c. Localisation et caractéristiques de la zone d'étude :***

La wilaya d'El Bayadh fait partie intégrante de la région des Haute Plaines steppiques du Sud-ouest algérien. Sur le plan physique, elle présente trois grandes zones distinctes :

- Au nord : les Hautes Plaines ;
- Au centre : l'atlas saharien ;
- Au sud : la Pré-Saharienne.

Elle est délimitée :

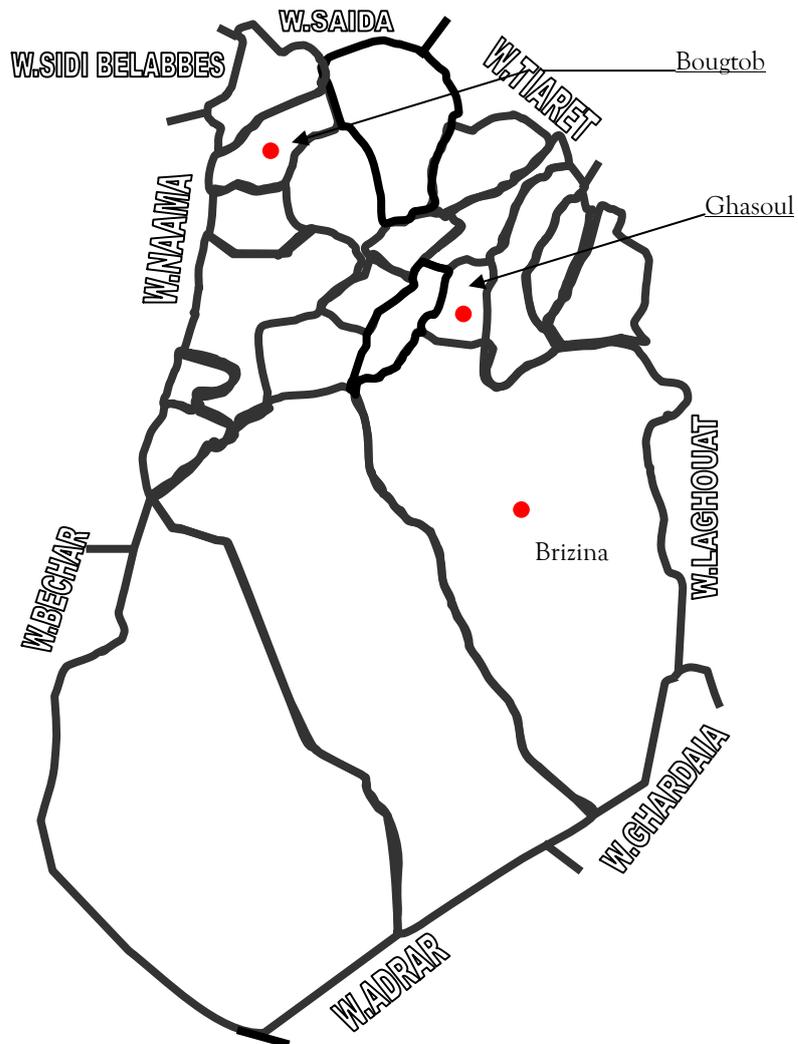
- au nord, par les wilayas de Saïda et de Tiaret ;
- à l'est, par les wilayas de Laghouat et de Ghardaïa ;
- au sud-est, par la wilaya d'Adrar ;
- au sud-ouest, par la wilaya de Béchar ;
- à l'ouest, par la wilaya de Naâma ;
- au nord-ouest, par la wilaya de Sidi Bel Abbes ;

Le climat est continental semi-aride avec des températures élevées dans l'été et basses en hiver avec des pluies inconstantes.

Elle est caractérisée par différents types d'élevage ovin et caprin traditionnel extensif intensif et semi intensif.



**Figur 24 :** Situation de la zone d'étude.



**Figure 25 :** Carte administrative de la commune d'El-Bayad et ces environnements

● Zone d'étude

**d. Echantillonnage :**

L'étude a porté sur un nombre total de 195 échantillons de sang qui en été prélevé de la veine jugulaire des espèces dont 96 têtes ovines d'où 56 sujets été vacciné l'an 2010 et 24 en 2011 et 16 en 2012, et 99 têtes caprines d'où 26 sujets été vacciné l'an 2010 et 42 en 2011 et 31 en 2012 contre la brucellose par le vaccin REV1.

**Tableau12 :** Prélèvements effectués au niveau d'El-Bayad.

Région	Espèce	Sexe		Age (mois)	Nombre de prélèvement	Nombre global
		Male	Femelle			
Brézina	Ovins	14	42	+ 24	56	82
	Caprins	5	21	+ 12	26	
Ghassoul	Ovins	5	19	+12	24	66
	Caprins	12	30	+12	42	
Bougatoub	Ovins	4	12	+12	16	47
	Caprins	7	24	+ 12	31	

**I.2. Matériel et méthodes :****I.2.1. Matériel :**

- Gants, lunettes ;
- Tubes de prélèvement sous vide ;
- Glacière ;
- Agitateur ;
- Support de plaque ;
- Notice d'emploi ;
- Schéma de distribution et d'identification ;
- Laveur manuel ou automatique pour le lavage des puits ;
- Pipettes réglables, ou fixes; pour mesurer et délivrer de 0 à 1000µL ;
- Chronomètre ;
- Embouts de pipettes à usage unique ;
- Eau distillée : l'eau utilisée pour la préparation de la solution de lavage peut être produite par un système de distillation conventionnel ou par tout un système performant de purification d'eau.
- Réactifs (antigène Rose Bengale).

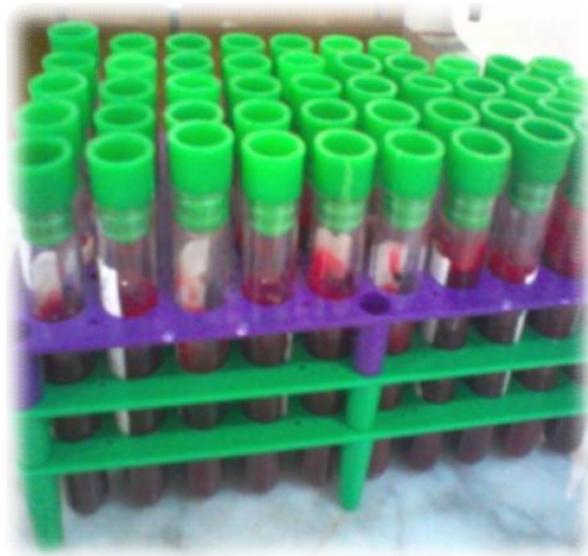
**I.2.2. Méthode :**

La méthode utilisée dans notre travail est basé sur l'épreuve sérologique (Rose Bengale), pour le dépistage de la brucellose chez les animaux qui ont subit une vaccination contre la brucellose par le vaccin Rev 1 durant les années 2010,2011et 2012.

**I.2.2.1. Prélèvements sanguins :**

Les sérums récupérés ont subit un test sérologique de Rose Bengale qui a été pratiqué dans le laboratoire de l'établissement public de la santé de proximité de Brezina.

Les prélèvements de sang sont réalisés dans des tubes secs stériles de types vacutainer sans anticoagulants dont chaque prélèvement est identifié par le code du sujet correspondant et un numéro d'ordre. les prélèvements sont gardés hermétiquement fermés à la verticale et transportés sous froid (dans une glacière au laboratoire de l'établissement public de la santé de proximité de Brezina.les sérums sont centrifugés chaque fin de journée de collecte des échantillons avec une centrifugeuse en raison de 5000tours par minute pendant 10 minutes.



**Photo 03 :** Tubes contenant du sang prélevé de la veine jugulaire des animaux vaccinés par Rev1.

**I.2.2.2. Mode opératoire :**

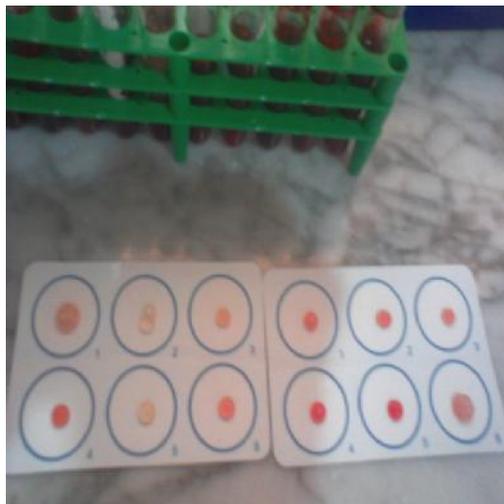
- Ne pas pipeter les réactifs à la bouche ;
- Eviter le contact du substrat avec la peau, les muqueuses et les yeux ;
- Le matériel livré ne contient aucun élément contaminant, et que les sérums des ruminants soient théoriquement non infectieux, il est conseillé de désinfecter l'ensemble des éléments à usage unique utilisés au cours des manipulations. Cette désinfection peut se faire soit par immersion pendant 1 heure minimum dans l'hypochlorite de sodium à 5% fraîchement préparé, avant de les éliminer 1 heure minimum ou par toute autre méthode conforme à la réglementation en vigueur.

**a- Dépôt des sérums et d'antigène:**

Le test au Rose Bengale a été réalisé dans le laboratoire de l'établissement public de la santé de proximité de Brézina.

- Placer l'antigène et les sérums à une température ambiante ;
- Sur une plaque munie de 6 puits, déposer 30  $\mu$ L de chaque sérum à tester ;
- Agiter le flacon d'antigène et en déposer 30  $\mu$ L à côté de chacun des sérums ;
- Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum à l'aide d'un petit bâton propre
- Agiter la plaque pendant 4 minutes exactement et lire immédiatement.

Cependant, cette épreuve a été révélée négative pour tous les sujets du premier lot, avant d'être vacciné par le vaccin anti-brucellique.

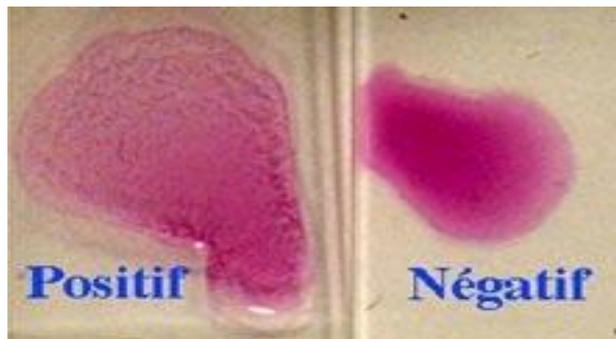


**Photo 04 :** Sérum sanguin.



**Photo 05 :** Mélange de l'antigène avec le sérum.

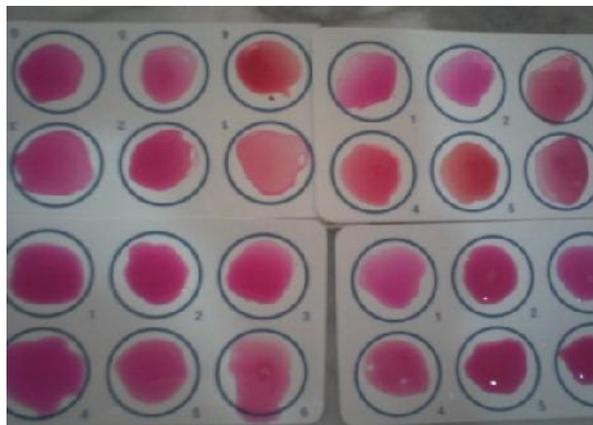
**b- Lecture :** Elle se fait immédiatement, en présence d'anticorps, il se produit une agglutination visible à l'œil nu, tandis qu'en l'absence d'anticorps, le mélange reste homogène.



**Photo 06 :** L'épreuve à l'antigène tamponné (le Rose Bengale)

**c. Interprétation des résultats :**

- Présence d'agglutination : résultat positive.
- Absence d'agglutination : résultat négatif.



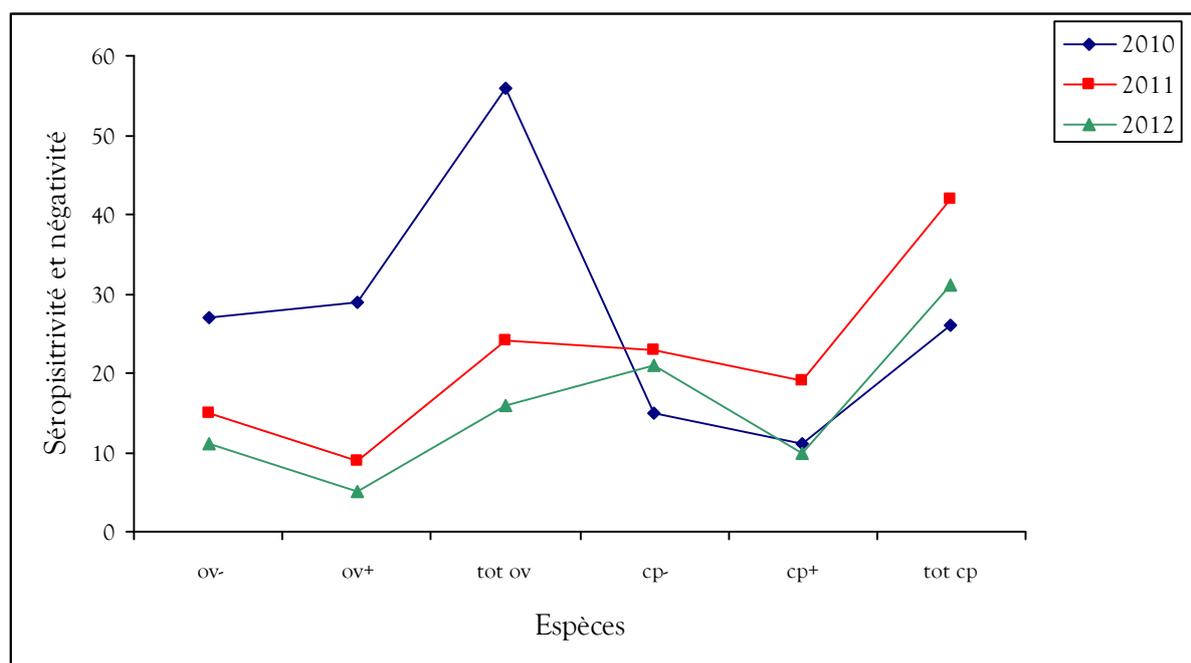
**Photo 07 :** Echantillon des résultats obtenus après la réalisation de test RB.

Les épreuves sérologiques les plus largement utilisées pour le diagnostic des infections à brucella lisse chez les ovins et les caprins sont les épreuves à l'antigène tamponné de brucella (buffered brucella antigène tests ou EAT), c'est-à-dire l'épreuve du Rose Bengale (RB, dénommée plus communément épreuve à l'antigène tamponné ou EAT) ou le Card – test, qui sont sensiblement identiques et le test de fixation du complément(FC). Chez les petits ruminants, l'EATet la FC sont les méthodes les plus largement utilisé et constituent les seules épreuves prescrites pour les échanges internationaux.

La réaction de Rose Bengale n'a pas une spécificité absolue mais est adapté au dépistage de masse des troupeaux infecté ou pour garantir l'ensemble d'infection dans les troupeaux indemnes.

L'avantage de ce test est simple, rapide (lecture à l'œil nu), peu couteux et qui permet d'analyser plusieurs sérums à la fois.

### II.1. Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces



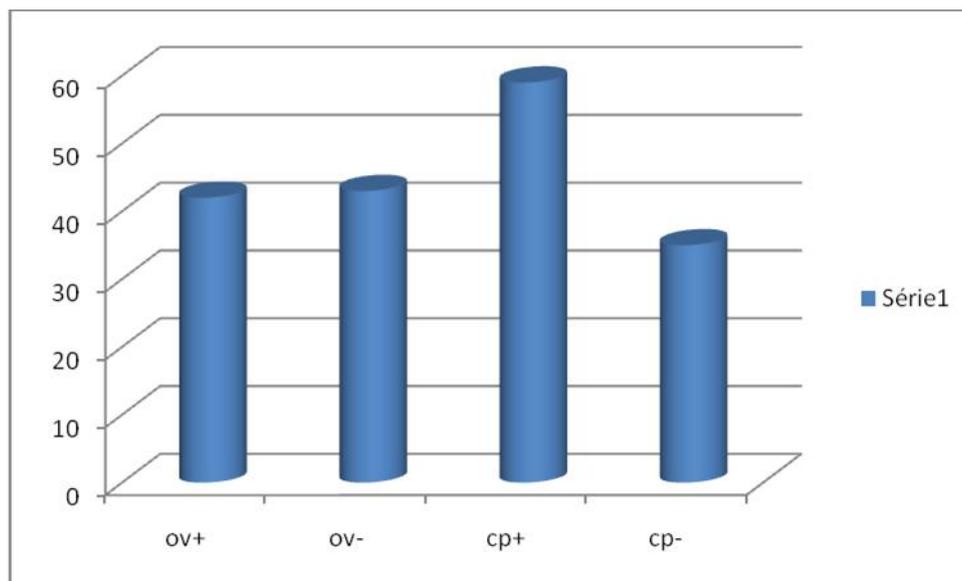
**Figure 26 :** Séropositivité et la séronégativité chez les deux espèces (ovines et caprines) pendant les années 2010,2011 et 2012.

L'analyse statistique des résultats obtenus sont montrés que la séropositivité des sérums est moins importante par rapport aux sérums négatifs après 36mois de vaccination ; et

nous avons remarqué qu'il ya des tests positifs après vaccination dans les années 2010,2011, 2012 et aussi il ya des animaux qui sont négatifs dont les anticorps sont absents.

Donc, nous pouvons pas incriminer l'efficacité du vaccin car les anticorps sont présent dans le sérum de quelques animaux des deux espèces et sont absent pour les autres.

### II.1.2. Effet de l'espèce :

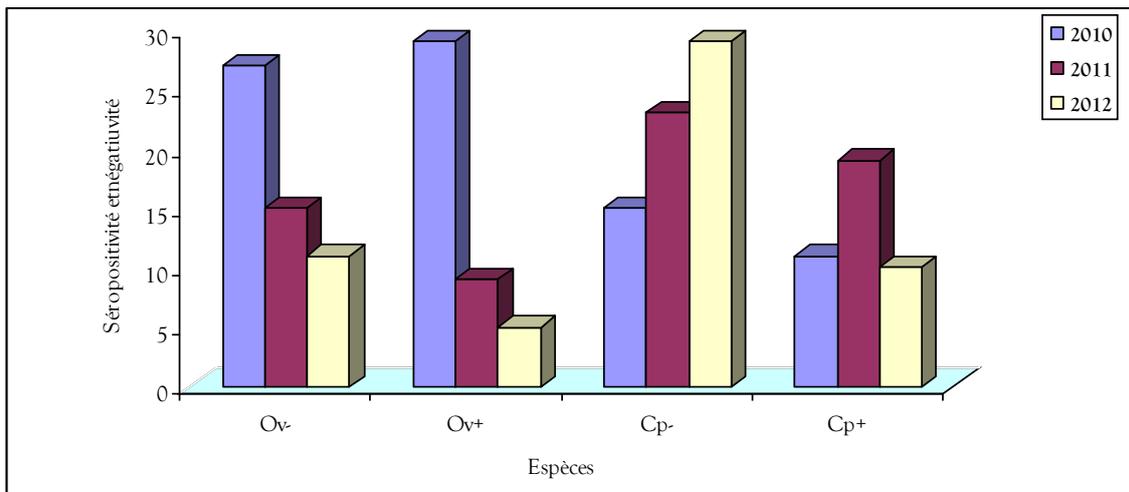


**Figure 27** : Effet de l'espèce

Nous constatons qu'il n'y pas une différence significative entre des anticorps sécrétés par les ovins et ceux sécrétés par les caprins, puisque les deux espèces possèdent le même antigène de surface M (structure polysaccharidique) (Philipon et Garin Bastuji, 2005).

Ceci est confirmé par les travaux de Rey, M., 1980 (vaccinations), les travaux de P. Pardon et al ; 1989 (la persistance des réactions sérologiques et allergiques consécutives à la vaccination par les vaccins H.38 ou Rev.1 de brebis en zone d'enzootie brucellique (*Brucella melitensis*)) et également les travaux de Hatami H. MD. MPH (2007) effectués sur le diagnostic sérologique de la brucellose.

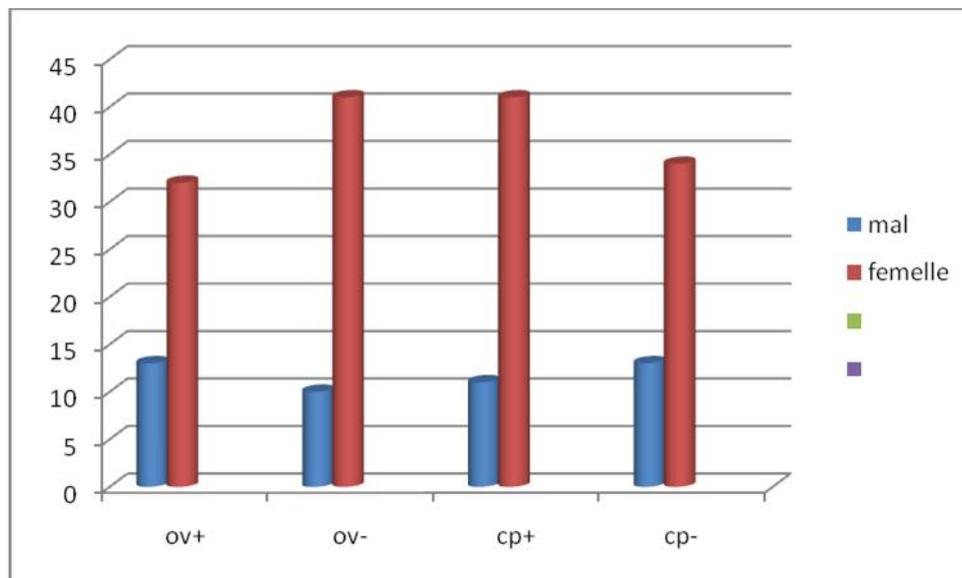
### II.1.3. Effet de temps



**Figure 28** : Effet de temps

D'après l'étude que nous avons réalisé ; nous avons remarqués que les anticorps sont présent dans quelques sérums des deux espèces (ovines,caprines) testés par le RB ce que signifier que la durée de vie des anticorps dans le sérum est longue par ce qu'ilya des animaux qui ont été vaccinés en 2010 et d'autres qui sont vaccinés2011,2012. Nous avons remarqué que les anticorps se minimisent et ne disparaissent pas.

### II.1.4. Effet de sexe



**Figure 29** : Effet de sexe

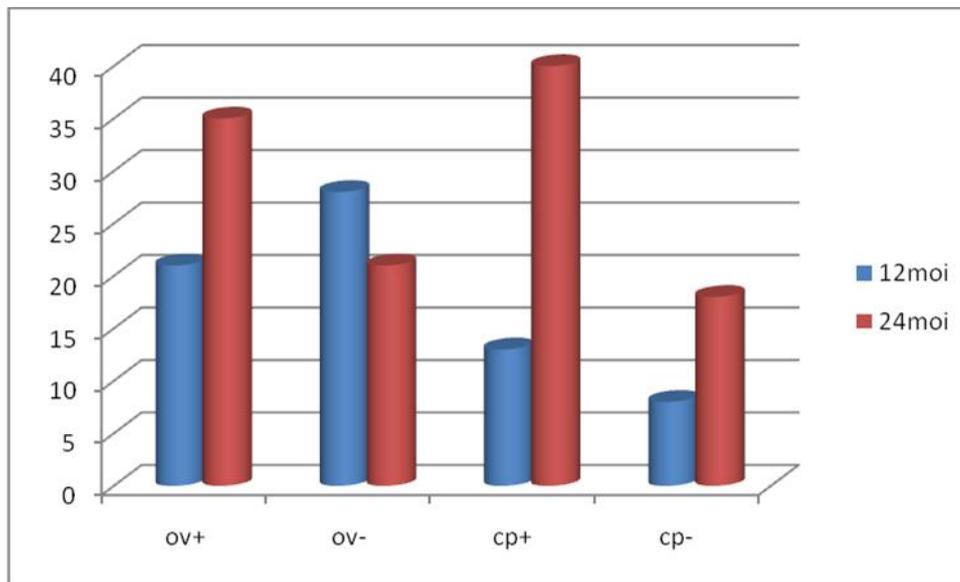
Nous avons remarqué dans notre étude que le sexe ne joue aucun rôle dans la réponse immunitaire. Ce qui était confirmé par S. Teshale; 2006 qui indique que la brucellose atteint sans discrimination aussi bien les mâles que les femelles.

Les mâles et les femelles auraient donc la même réactivité aux tests sérologiques en l'occurrence le test ELISA (S. Teshale; 2006).

Selon Marchandin (2007), la réponse immunitaire induite par les anticorps vaccinaux est répartie en trois phases que se soit mâle ou femelle.

1. Phase de latence suivit d'une croissance progressive du taux des anticorps après la vaccination;
2. phase de croissance correspondant au pic " concentration plus ou moins élevée de anticorps sériques"
3. phase de décroissance ou phase de déclin qui correspond à la baisse de concentration jusqu'à un niveau minime.

De même Les mêmes résultats sont indiqués par qui affirme qu'aucune différence de prévalence n'a été observée en fonction du sexe des animaux.

**II.1.5. Effet de l'âge :****Figure 30** : Effet de l'âge

Le vaccin Rev 1 doit être considéré comme l'outil idéal pour prévenir la brucellose chez les Petits ruminant.

Toute fois, les résultats obtenus dans notre étude déterminent que l'âge de l'animal n'a aucune influence sur la réponse sérologique du sujet. Et cela est élucidé statistiquement par la relation entre l'âge de l'animal exprimée en mois, et la production des anticorps chez les deux espèces.

En conclusion nous pouvons dire, d'après cette enquête qu'ont peut pas incriminer l'efficacité du vaccin parce qu'il ya des animaux qui sont positifs qui sont respectivement vaccinés en 2010, 2011 et 2012.

Il y a d'autres qui sont identifier comme vaccinés, mais sont négatifs, d'où l'explication de cette absence des anticorps est par la négligence des vétérinaires praticiens qui déclarent tout le cheptel est vacciné mais en réalité, il ne vaccine qu'une partie du cheptel.

Il y a un autre problème qui est très important, c'est l'identification du cheptel vacciné qui ne respecte pas les normes ou bien la méthode d'identification du cheptel vacciné par des boucles en plastique, au niveau de l'oreille n'est pas efficace de tel sort ne durent que quelque temps et se disparaissent. D'où le déficit de distinguer le cheptel vacciné à non vacciné.

L'absence totale du contrôle rigoureux par les services qui chapotent ce programme de prophylaxie médicale (IVW), l'absence totale de conscience positionnelle chez le vétérinaire mandaté qui est la tête de la réalisation de cette campagne prophylactique.

## CONCLUSION GENERALE

Plus que jamais, les maladies infectieuses, par leur capacité d'évolution, d'adaptation, de transformation au sein du monde vivant, apparaissent comme une menace pour la santé humaine.

Malgré les immenses progrès de la science et de la médecine, les innovations thérapeutiques et immunologiques, le risque infectieux demeurent une réalité permanente.

En médecine vétérinaire, plus particulièrement appliquée à l'élevage ovin, toute action visant à préserver la santé des animaux devrait être, autant que faire se peut, de type préventif, si on veut réussir sur le plan de la compétitivité. Cela va du dépistage précis de la maladie ou de l'infection à la mise en place des moyens prophylactiques appropriés.

Dans ce contexte, la vaccination représente le principal moyen de prévention des maladies infectieuses animales.

Le vaccin classique vivant *brucella mélitensis* Rev 1 a été probablement continuera d'être l'outil essentiel pour lutter contre la brucellose des petits ruminants dans la majorité des situations épidémiologiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.philipon, L.Prot: cour de bactériologie générale. Faculté de médecine Cochin-Ports - Royal Paris V. <http://bibliotheques.univ-lille1.fr/grisemine> (2002).
- Acha et Szyfres, 1989. Zoonose et maladies transmissibles commune à l'homme et aux animaux, 2ème édition. P. 19-35.
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) : David Albert, Dominique Calvez, Barbara Dufour, Bruno Garin-Bastuji, Sébastien Lavieille,
- Aggad. H. Etude épidémiologique de la brucellose animale et humaine en Algérie.2004.
- Alazart, 1986. Déceler les premiers signes de la brucellose.p.19.
- Barbara D. et Marc S. (2004).Diversité de méthode de lutte contre les zoonoses. Epidémiol. Et santé anim, 46, 33-44
- 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.
- Boulkaboule. A et Moulay .K; (2006): parasitisme interne du mouton, de race ouled djellal en zone semi aride d'Algérie.
- Buchanan TM; Hendricks SL; Feldman RA 1974).brucellose in united states, 1960-1970: An abattoir associated disease, III: Epidemiology and evidence for acquired immunity. Medicine (Baltimore).53(6); 427-439.
- Cecile B., Jack bienvenu, jonathan lopez, (2006).Réaction eg-ac laboratoire d'immunologie, faculté de pharmacie lyon, 2ème édition.
- Centers for Disease Control and Prevention, (2005). Brucella mélitensis.
- Chakroun. M, Bouzouaia. N. 2007 : La brucellose : une zoonose toujours d'actualité, Brucellosis : A tropical zoonosis. Service des Maladies Infectieuses. EPS Fattouma Bourguiba - Monastir. Rev Tun Infectiol.
- Charachon. S. Faculté de Médecine Montpellier - Nîmes (2007) : Relation hôte- bactérie.
- Chevalier. P, 1981. La cellule - Etude structurale et moléculaire. P.61-62-89.
- Cleon. V, 1988. Diseases causing abortions -Ed IEA & FEBIGER-Philadelphia- Third edition- P.50-52.
- Clotilde M. A. S. Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie). 2006.
- Comité mixte FAO/OMS d'expert de la brucellose. Sixième rapport. Organisation mondiale de la santé de rapport technique 740. Genève 1986.
- Contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Merial (Lyon), 2008, 49 p.
- Copyright © 2005 look4 medssante. Com. Maladies Infectieuses « Brucellose » Fièvre de Malte = Méliococcie ». Cours de médecine
- Copyright © 2005 look4 medssante.com Maladies Infectieuses Brucellose » Fièvre de Malte = Méliococcie. Cours de médecine. Rev1 vaccinated sheep. Vet. Microbiol., 53, 325-337.
- Craplet. C et Thibier. M, 1980): le mouton, reproduction- génétique alimentation - maladie- Tome IV. P. 383-388.

- DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES
- Decoster, FLM. P3. brucella
- Denoel PH. A. ", Godfroid J"., Michel P. \*, Saman E., Leteon J-J. \*, Limet J.N. "Evaluation de l'activité protectrice de la fraction de la paroi de Brucella insoluble dans le SDS et identification d'antigènes de Brucella utilisables pour le diagnostic.
- Direction des services agricole (DSA) de Tiaret (2008).
- Ecoles nationales vétérinaires Française. (2004) : Maladies contagieuses. Les zoonoses infectieuses.
- Ecoles nationales vétérinaires Française. (2004) : Unités de pathologie Infectieuse. La brucellose animale.
- El Idrissi A.H., Benkirane A., El Maadoudi M., Bouslikhane., Berrada J. et Zerouali A. (2001). Efficacité comparée des vaccins à souches vivantes RB51 de Brucella abortus et Rev. 1 de Brucella melitensis contre une infection expérimentale par Brucella melitensis chez des brebis gravides. Rev. sci. Tech. Off. Int. Epiz., 20 (3)).
- El-Bachâane, M.M (1998). le vaccin contre la brucellose humaine et animale-Bovine & Ovine-middle east £ north africa -Liban; 6 th year -Nbre 14-July-Augut -.26-31.
- Elie .A. Enquête séro épidémiologique sur les principales maladies caprines au Liban. (2007).
- Eric C D, Philippe G, Marc D. Enseignants à la Faculté Libre de médecine de Lille.... (2007) : Cours de microbiologie de la faculté libre de médecine de lille.
- Euzéby J.P. 2004: Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire
- Ferron et al .1984.bactériologie médicale à l'usage des étudiant en médecine. 12ème édition. P. 160-163.
- Flandrois.J-P, 1997. Bactériologie médicale, pres univ Lyon, France. P.219-225
- Frobisher.M et Fuerst. R, 1975. Microbiologie clinique – les éditions HRW- P 272-276.
- Ganière J.-P. et al. : La brucellose animale, Polycopié des Unités de maladies
- Garin Bastuji B. Brucellose bovine, ovine et caprine (1993): contrôle et prévention. Point Vét.; 25:107-114.
- Garin-Bastuji, B. (2000) laboratoire national et OIE/FAO de référence pour la brucellose, fssa, unité zoonoses bactériennes, Les brucelloses humaine et animale en France en l'an 2000.
- Gorvel J-P (2004) :\* Brucella\*: la bactérie qui se cache dans une vacuole, à l'abri des armes intracellulaires.
- Guilloteau et al. Vaccine, 2006, Infectiologie animale et santé publique, Tours et santé publique, « La brucellose: zoonose importante et mondiale ».
- Hamdi. M, (2000).lutte contre la breucellose contre le vaccine SRB 51.Bovine &Ovine, middle east £ north africa-Liban;6 thyear, Nbre26-July-Augut-p.30-31.
- Harmon BG,Adam LG , Frey M; (1988). Urvival of rough and mooth train of Brucella abortu in bovine mammary gland macrophages.Am j Vet Res.49 (7); 1092-1097.
- Hatami H. MD. MPH. Diagnosis of Brucellosis Shahid Beheshti University of medical sciences.2007
- I.N.S.P. La brucellose dans les hauts plateaux sétifiens et les hautes steppes de

- I.N.S.P. Situation épidémiologique du mois d'Avril 1999, sur la base des cas déclarés à M'Sila. : « Relevé épidémiologique mensuel. VOL.N°2. » : p 16 à 20.
- Innogenetic, Gent, Belgique. 1994. p.222
- INRA « Institut national de la recherche agronomique » (2007) : Développement d'un nouveau vaccin contre la brucellose des petits ruminants.
- INRA/Christian Slagmudler/Alain Beguey .Bergerie expérimentale pour les tests de vaccinations brucelliques (En médaillon : par voie conjonctivale).
- Institut de veille sanitaire (2004). Etude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, 2002 -. Département des maladies infectieuses.
- Institut National de recherches Vétérinaires, Bruxelles, Belgique.
- Institut POURQUIER. Elisa Brucellose Ovine / Caprine Sérum Individuel Monocouple - Version P04310/05 - Page 5/5.
- J.Roux.Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé, 57(2):179-194(1979).
- Krim Boughalem “ S/D Santé Animale” : Brucellose animale -situation et programme de lutte - page 4- 11- 17- 18-19-21-22-23
- Laboratoire d'Immunologie-Microbiologie, FUNDP, Namur, Belgique.
- Lambin .S et German.A, 1969. Précis de microbiologie - techniques microbiologiques- Tome I. P.353.
- Le Guyon R, 1960. Précis de bactériologie- G.Doin- Paris.P .331-342.
- Le Minor.L et Verron. M, 1989. Bactériologie médicale.P.651-662.
- Leclerc H, 1983. Microbiologie générale- Doin éditeurs- P. 45-54.
- Mainil. J. 2005 : Bactériologie générale (2) 3E Candidature.
- Manuel terrestre de l'OIE (2005) : Brucellose ovine et caprine (Infection à *Brucella ovis* exclue).p. 658
- Merial .La brucellose animale. Brucellose ovine et caprine. 2004. P.19
- MINISTERE DE L'AGRICULTURE,
- Obre et Buttiaux, 1983.
- Oger, 1986.
- OIE, Paris, diagnosis of brucellosis by serology.pp. 475-489. ... 2009-05-18.
- OMS (Organisation mondiale de la Santé). Département des Maladies transmissibles- Surveillance et Action. Normes recommandées par l'OMS pour la Surveillance. Deuxième édition - juin 2000. p 27
- OMS, 2006. Les épreuves d'allergie. Chapitre 3. p.135-144
- OMS. Production des vaccins antibrucelliques.Série de rapports techniques; N°463,1971, p. 24
- OVF, (2005). le prélèvement d'échantillons et le diagnostic de la brucellose
- P. Pardon R. Sanchis G. Molenat N. Bouchard D. Schmitt .J. Marly M. Durand Persistance des réactions sérologiques et allergiques consécutives à la vaccination par les vaccins H.38 ou Rev.1 de brebis en zone d'enzootie brucellique (*Brucella melitensis*) (1989). P .63.
- Pelmont. J ,1996. Bactéries et environnement- Adaptations physiologiques- Volumes I. P.35-37.

- Philipon (Faculté de Médecine Paris V, Université René Descartes) et B. Garin- Bastuji, CNR des Brucella/LNR des Brucelloses animales, AFSSA – Maisons-Alfort (Nouvelle version du 30.08.05).
- Pouillot. R, Garin-Bastuji. B, Dufour. B. (1998). Quelques clés pour le diagnostic de la brucellose bovine dans un contexte de réactions sérologiques faussement positives. *Le Point Vétérinaire*; 29(193) :728-32.
- RDT i n f o N° 39 Octobre (2003) : Maladies transmissibles De l'animal à l'homme.
- Regnault, JP. Immunologie générale. Montréal, Décarie, (1988): Transfert trans-placentaire d'anticorps d'origine maternelle et immunité humorale néonatale
- Rey, M. Vaccinations. Paris, Masson. 1980
- Saegerman C", Weynants V.", T.K-O. VO", L. De Waele", Tibor A.",
- Salim D. (2008). La brucellose et brucella mélitensis (Biovars : ABORTUS, CANIS, SUIS).
- scientific Committee on animal health (2001) brucellosis in sheep and the goats Station météorologique d'AIN BOUCHEKIF, Wilaya de Tiaret, 2008).
- Séroprévalence de la brucellose des petits ruminants dans les districts d'Afar et les régions pastorales somaliennes d'Ethiopie de l'est : impact des pratiques d'élevage. p 557-563.volume 11, tome:157.
- Sylvie M-C ., Vincent. F, David. O et Micheli .R, faculté de médecine, Nîmes, France (2002). Available online
- Teshale .S, Muhie. Y, Dagne. A et Kidanemariam. A, (2006)
- Vincent Cattoir. Diagnostic bactériologique. Cours de DCEM1 - Faculté de Médecine de Créteil. (2006). Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène. Page
- WHO, World Health Organization (1986): Joint Food and Agriculture Organization. FAO- WHO Expert Committee on Brucellosis (6th report).WHO. Technical report series.740;56-57, 62-63.
- Young EJ. An overview of human brucellosis. *Clin.Infect. Dis* 1995; 21:283-9.



Réalisation de expérimentation.



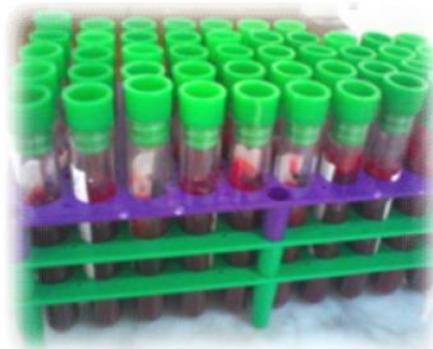
Siance de travail avec l'encadreur



Traitement des données



Méthode de prélèvement.



Tubes de prélèvements



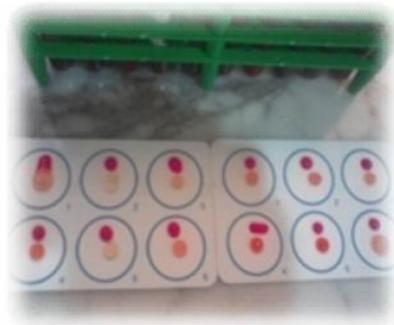
Glacière



Centrifugeuse



Sérum sanguin après centrifugation.



Tablette contint le dépôt de serum



Réactif (rose bengal )



Vaccin (coglareve)



Cheptel ovin vacciné contre la brucellose .



Espèces caprines (Bougtob)