

République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : Epidémiologie des maladies animales
et santé publique

Contribution à l'étude de l'impact de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine

Soutenu le : 11 septembre 2017

Présenté par : Bennia Sohaib El-Ghazali

Les membres du jury :

Présidente : Pr Temim Soraya, ENSV.

Examineur : Dr. Mohammedi Dahmane, MCA ENSV.

Examineur : Dr. Bitam Idir , MCA, ESSAIA.

Promotrice : Pr. Ben-Mahdi Meriem-Hind, ESSAIA-ENSV.

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

Je remercie très chaleureusement ma directrice de thèse, madame la professeure Ben-Mahdi Meriem Hind, qui, malgré ses nombreuses occupations, a accepté de prendre la direction de cette thèse en cours de route, transformant ainsi les difficultés rencontrées en une expérience enrichissante. Je lui suis également reconnaissant de m'avoir assuré un encadrement rigoureux tout au long de cette thèse, tout en me donnant toutefois la possibilité de trouver par moi-même mon cheminement personnel. J'ai particulièrement apprécié sa très grande confiance qu'elle a su garder en ma capacité à rendre ce projet à terme. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens également à remercier :

Madame Temim Soraya, Professeur à L'école Nationale Supérieure Vétérinaire qui m'a fait l'honneur de présider le jury, Mes remerciements vont également aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de participer au jury pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail, en acceptant de l'examiner, en l'occurrence : Monsieur Bitam Idir, maitre de conférences à L'école Supérieures Des *Sciences* De l'Aliment Et Des Industries Agroalimentaires et Monsieur Mohammedi Dahmane, maitre de conférences à L'école Nationale Supérieure Vétérinaire.



Je suis aussi redevable à la contribution de monsieur Kardjdj Moustapha enseignant au niveau de L'école Supérieures Des Sciences De l'Aliment Et Des Industries Agroalimentaires de par sa disponibilité, son aide et sa collaboration pendant la réalisation de ce travail.

J'adresse toute ma gratitude à tous mes amis et à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Je m'abstiens de les nommer tellement la liste est longue. Je remercie Monsieur le directeur de la direction des services agricole et Madame l'inspectrice vétérinaire de la wilaya de Bordj Bou Arreridj de m'avoir accueilli au sein de la DSV et de m'avoir permis de travailler dans d'aussi bonnes conditions. Je remercie toutes les personnes formidables que j'ai rencontrées par le biais de la DSA en particulier à Soumia pour son aide et sa présence.

Je ne saurais terminer sans remercier tous les membres de ma famille, en particulier mes parent et mes grands-parents pour leurs encouragements et leurs appuis moral qui m'ont permis de mener à bon terme ce travail .

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I	Définition.....	1
II	Répartition géographique.....	1
III	Importance	2
III.1	Impact sur les productions animales.....	2
III.2	Impact sur la santé publique	3
IV	Agents pathogènes	3
IV.1	Taxonomie.....	3
IV.2	Classification	4
IV.3	Bactériologie.....	5
IV.3.1	Morphologie	5
IV.3.2	Culture	5
IV.3.3	Caractères biochimiques.....	6
IV.3.4	Caractères antigéniques	6
IV.4	Les différentes espèces de <i>Brucella</i> et leur(s) réservoir(s).....	8
V	Épidémiologie.....	8
V.1	Épidémiologie analytique	9
V.1.1	Espèces animales affectées.....	9
V.1.2	Sources de contagion.....	9
V.1.3	Matières virulentes	9
V.1.4	Résistance	10
V.1.5	Modes de transmission	10
V.1.6	Voies de pénétration	11
V.2	Epidémiologie synthétique	11
V.3	Pathogénie	12
V.3.1	Période primaire	12
V.3.2	Période secondaire.....	13
V.3.3	Survie de brucella dans les cellules phagocytaires	13
VI	Symptômes.....	14
VII	La réponse immunitaire	15
VII.1	Réponse humorale	16
VII.2	La réponse cellulaire.....	16
VIII	Diagnostic	17
VIII.1	Diagnostic épidémiologie-clinique.....	17

VIII.2	Diagnostic différentiel	18
VIII.3	Diagnostic expérimental	18
VIII.3.1	Prélèvements.....	18
VIII.3.2	Diagnostic direct.....	19
VIII.3.3	Diagnostic indirect.....	22
VIII.3.4	Diagnostic allergique.....	25
IX	Prophylaxie	25
IX.1	Prophylaxie sanitaire	25
IX.1.1	Les moyens défensifs.....	26
IX.1.2	Mesures offensives	27
IX.2	Prophylaxie médicale	28
IX.2.1	La Vaccination.....	29
IX.3	Prophylaxie mixte.....	31
IX.4	Stratégies de contrôle de la brucellose	31

PARTIE PRATIQUE

I	Objectif de l'étude	34
II	Zone et période d'étude	34
III	Matériels & Méthodes.....	37
III.1	Population étudiée et méthode d'échantillonnage	37
III.2	Prélèvement sanguin et préparation des sérums	38
III.3	Récolte des données.....	38
III.4	Analyse statistique.....	39
III.5	Analyse de laboratoire.....	40
III.5.1	Épreuve au Rose Bengale	40
III.5.2	Technique d'ELISA.....	42
IV	Résultats.....	46
IV.1	Résultats de l'enquête.....	46
IV.2	La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine.....	46
IV.3	Résultats de l'étude rétrospective	46
IV.4	Bilan de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants	48
IV.5	Résultat de l'étude expérimentale.....	49
IV.5.1	La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine dans la zone d'étude	52
IV.5.2	Etude des facteurs de risque liés à la séropositivité à la brucellose.....	53
IV.5.3	Impact de la vaccination anti-brucellique chez les petits ruminants sur la brucellose bovine.	56
V	Discussion.....	60
V.1	La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine.....	60
V.2	Facteurs de risque de séropositivité de la brucellose.....	61

V.2.1	L'état de parturition	61
V.2.2	L'âge.....	62
V.2.3	Effet de l'introduction	62
V.3	Impact de la vaccination brucellique sur la brucellose bovine	63
Conclusion		67

Liste des abréviations

Ac :	Anticorps
Ag :	Antigène
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
B :	Brucella
CO ₂ :	Dioxyde de Carbone
EAT :	Epreuve à l'Antigène Tamponné
ELISA:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FAO:	Food and Agriculture Organization
FC :	Fixation du complément
H ₂ S :	Hydrogène Sulfuré
IC :	Intervalle de Confiance
IFN :	Interféron
IgA :	Immunoglobuline A
IgG :	Immunoglobuline G
IgM :	Immunoglobuline M
IL :	Interleukine
LPS:	Lipopolysaccharide
MH-OR:	Mantel Haenszel Odds Ratio
Mm :	Millimètre
OIE :	Office International des Epizooties
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PCR :	Polymerase chain reaction
PH :	Potentiel Hydrogène
RB:	Rose Bengale
R-LPS:	Rough- Lipopolysaccharide
SAW :	Séro Agglutination De Wright
Se :	Sensibilité
S-LPS :	Smooth- Lipopolysaccharide
Sp :	Spécificité
SPA :	Santé et Production Animales
TNF:	Tumor Necrosis Factor
µl :	Microlitre

Liste des tableaux	Page
Tableau 1 : Stratégie de contrôle de la brucellose et les méthodes de surveillance en fonction de la situation épidémiologique	32
Tableau 2 : Estimation de l'effectif de ruminants dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj	35
Tableau 3 : Résultats séro-épidémiologiques de la brucellose bovine dans la commune de Ras el oued (Wilaya de Bordj Bou Arreridj)	47
Tableau 4 : Résultats de l'étude rétrospective de la brucellose bovine dans la région de Ras El Oued (wilaya de bordj Bou Arreridj)	47
Tableau 5 : Bilan de la vaccination anti-brucelgique des petits ruminants (2014/2015)	48
Tableau 6 : Résultats séro-épidémiologiques de la brucellose bovine dans la commune de Ras el oued (Wilaya de Bordj Bou Arreridj)	51
Tableau 7 : Effet du de l'état de parturition sur la prévalence de la brucellose bovine	53
Tableau 8 : Effet de l'âge sur la prévalence de la brucellose bovine	53
Tableau 9 : Effet de l'introduction sur la prévalence à l'échelle troupeau de la brucellose bovine.	54
Tableau 10 : Effet du contrôle à l'introduction sur la prévalence à l'échelle troupeau.	54
Tableau 11 : Effet du contrôle à l'introduction sur la prévalence intra-troupeau de la brucellose bovine.	55
Tableau 12 : Effet du type d'élevage sur la prévalence à l'échelle du troupeau de la brucellose bovine	56
Tableau 13 : Effet du type d'élevage sur la prévalence à l'échelle intra-troupeau de la brucellose bovine	57
Tableau 14 : Effet du type d'élevage sur la prévalence individuelle de la brucellose bovine	58

Liste des figures	Page
Figure 1: Répartition géographique de la brucellose animale à <i>Brucella abortus</i>	02
Figure 2: Répartition géographique de la brucellose animale à <i>Brucella Melitensis</i> (OIE, 2017)	02
Figure 3 : aspect microscopique des bactéries du genre <i>Brucella</i>	20
Figure 4 : culture de <i>Brucella abortus</i>	21
Figure 5 : Le test de l'anneau ou ring-test	24
Figure 6 : Localisation géographique de la wilaya de Bordj Bou Arreridj	36
Figure7 : Localisation de la daïra de Ras El Oued	36
Figure8 : préparation des sérums après une centrifugation	38
Figure 9 : matériels utilisés lors de l'épreuve au Rose Bengale	41
Figure10 : résultats après la coloration au Rose Bengale	42
Figure11 : Principe de la méthode Immuno-enzymatique ELISA (ELISA indirect)	44

Introduction

La brucellose, connue historiquement sous le nom de fièvre de Malte ou mélitococcie, est une zoonose due à des bactéries du genre *Brucella*. Son extension est mondiale avec une prédominance dans le pourtour du bassin méditerranéen et les pays en voie de développement. C'est une anthrozo-zoonose hautement contagieuse, dont l'impact économique sur le développement des industries animales est considérable. Par ailleurs, elle est considérée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme la zoonose majeure la plus répandue dans le monde. Elle représente une menace sérieuse pour la santé humaine, elle sévit dans de nombreux pays engendrant d'importants coûts pour la santé.

La brucellose bovine est une zoonose de répartition mondiale due, le plus souvent à *Brucella abortus*. Cependant elle est généralement liée à *Brucella melitensis* dans les zones d'endémie de brucellose ovine et caprine. Caractérisée essentiellement chez les femelles par des avortements, et chez les mâles par de l'orchite et de l'épididymite.

Dans un pays comme l'Algérie où l'élevage bovin laitier prend de l'importance. La prévention de la maladie est essentielle compte tenu de son risque pour la santé humaine et son impact économique important. Un programme de lutte basé sur une prophylaxie sanitaire appliquée aux cheptels a été ainsi instauré depuis 1995 (DSV, 2011).

Néanmoins la brucellose continue à sévir jusqu'à présent à l'état enzootique dans nos cheptels bovins, ovins et caprins, même après l'application de ce programme de lutte basé sur un système de dépistage - abattage.

En 2006 et suite à l'arrêté interministériel du 13 juin 2005 (JORA, 2005), la stratégie prophylactique du pays a pris une nouvelle dimension par l'instauration de la vaccination anti-brucellique des ovins et des caprins des wilayas pilotes à haut risque zoonotique.

La situation épidémiologique s'est généralement améliorée dans certaines de ces wilayas dont la wilaya de Médéa où la vaccination a débuté en 2006 et s'est prolongée sur une période d'environ de 10 ans (2006- 2015). La prévalence bovine dans les troupeaux et chez les animaux est, en moyenne, passée de 11,33 % (2006) à 7,12 % (2015), et de 6,59 % (2006) à 3,08% (2015) respectivement.

Il nous a semblé par conséquent judicieux d'apprécier précisément la contribution de la vaccination des petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine et ce en déterminant la prévalence de

la brucellose bovine à la wilaya de Bordj Bou Arreridj après l'instauration de cette nouvelle approche prophylactique basée sur une vaccination par le vaccin Rev-1 des petits ruminants de cette région.

Le présent manuscrit a été scindé en deux parties :

Une première partie bibliographique, consacrée à une mise au point synthétique sur les généralités de la brucellose, son étio-pathogénie, ses manifestations cliniques et les outils mis en œuvre dans prophylaxie.

Une seconde partie pratique, a porté sur l'évaluation de l'impact de la vaccination anti-brucellique chez les petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine. Le matériel utilisé et les méthodes adoptées lors de l'étude expérimentale y sont détaillés et les résultats obtenus présentés et discutés.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I Définition

Considérée comme la zoonose la plus répandue dans le monde La brucellose est une maladie hautement contagieuse connue historiquement sous le nom de fièvre de Malte ou mélitococcie, c'est une zoonose due à des bactéries du genre *Brucella*. Bien que son extension est mondiale elle présente une prédominance dans le pourtour du bassin méditerranéen et les pays en voie de développement où elle constitue encore une menace sérieuse pour la santé humaine et représente un surcoût économique important. La prévention de la maladie est essentielle compte tenu de son risque pour la santé humaine et son impact (Chakroun et Bouzouaia, 2007).

La brucellose bovine est habituellement due à l'un des biovars de *Brucella abortus*. Dans Ganièrecertains pays, particulièrement en Europe méridionale et en Asie occidentale, où les bovins sont au contact étroit des ovins et des caprins, l'infection peut également être causée par *B. melitensis*. Occasionnellement, *B. suis* peut induire une infection mammaire chez les bovins, mais il n'a pas été rapporté d'avortement (OIE, 2016).

II Répartition géographique

La répartition géographique de la brucellose dans le monde est strictement corrélée à celle des régions d'élevage de caprins, d'ovins et de bovins. Elle concerne tous les continents, avec une densité des cas surtout marquée en Afrique, en Asie, notamment au Proche-Orient, et dans les pays d'Europe centrale, en particulier la zone des Balkans (Calveta et *al* , 2010).

De très nombreux pays sont encore infectés par la brucellose bovine, avec une prévalence et une incidence variable d'un pays à l'autre (Figure 1 & 2). La situation zoosanitaire internationale relative à la brucellose bovine évolue en effet continuellement du fait des échanges mondiaux et l'évolution des programmes de surveillance nationaux (Lefèvre, 2003). Bien qu'éradiquée ou en voie de l'être dans un grand nombre de pays industrialisés, grâce à une sévère politique de dépistage au sein des troupeaux et d'éradication par la vaccination ou l'abattage. Cette maladie constitue encore de nos jours une source de préoccupation dans les pays en voie de développement, qui ne disposent pas des moyens pour mettre en place une politique de lutte massive contre la maladie et dans lesquels la brucellose reste endémique (OMS, 2006 ; 2007).

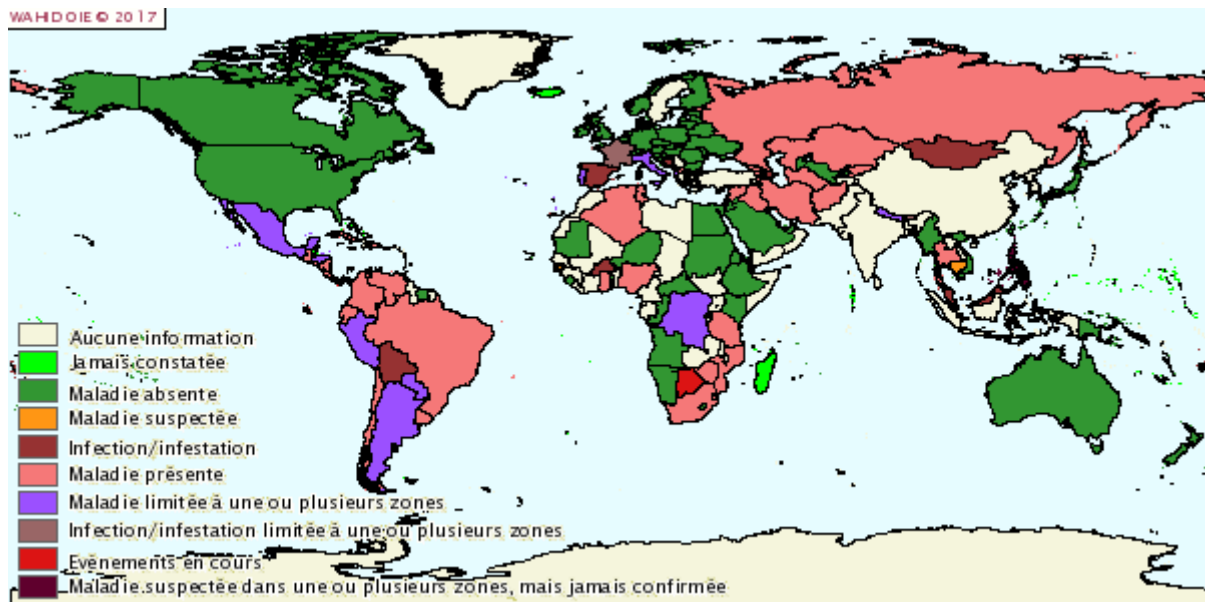


Figure 1 : Répartition géographique de la brucellose animale à *Brucella abortus* (OIE, 2017).

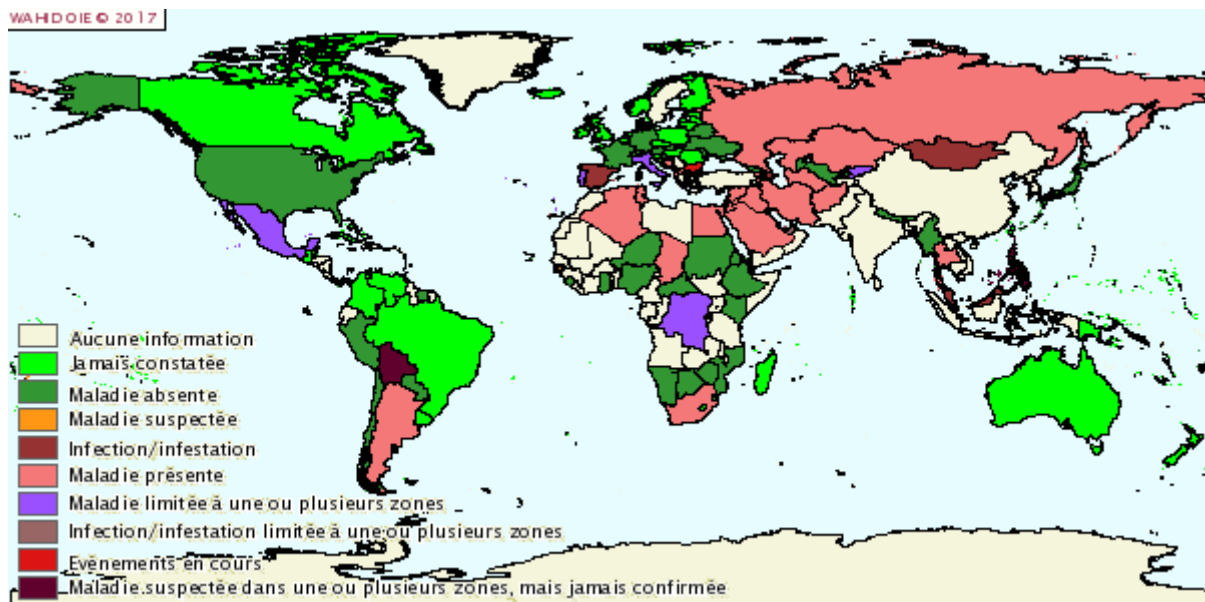


Figure 2 : Répartition géographique de la brucellose animale à *Brucella Melitensis* (OIE, 2017).

III Importance

III.1 Impact sur les productions animales

Son importance est liée à ses conséquences économiques sévères. Elle est surtout ressentie dans les pays pratiquant un élevage intensif. Elle résulte à la fois des effets directs sur les animaux c'est-à-dire une perte de production (avortements, stérilité, diminution de la production laitière), et des effets indirects sur les industries animales, lesquels sont associés aux coûts des interventions par les services vétérinaires (vétérinaires praticiens privés et fonctionnaires) et de la reconstitution des cheptels, ainsi

qu'au manque à gagner lié aux entraves imposées aux mouvements et au commerce des animaux (Benkirane, 2001 ; Ganière, 2016).

III.2 Impact sur la santé publique

L'importance de la brucellose sur la santé publique est liée à la fréquence et la gravité des cas humains contractant la maladie. A l'échelle mondiale, Environ 500 000 cas de brucellose humaine sont répertoriés chaque année d'après l'Organisation Mondiale de la Santé. Cependant, cette prévalence varie considérablement d'un état à l'autre suivant le niveau de développement économique de chaque pays. Si la fréquence tend vers la régression dans les pays développés, ce n'est pas le cas dans les pays en voie de développement ou sous-développés où elle peut atteindre des taux très élevés (Chakroun et Bouzouaia, 2007). Les pays développés enregistrent donc une prévalence de brucellose humaine beaucoup plus faible que les pays en voie de développement grâce aux politiques d'assainissement qui ont été mises en place (Memish et Balkhy, 2004).

IV Agents pathogènes

IV.1 Taxonomie

Le système actuel de taxonomie concernant le genre *Brucella* est fondé sur les recommandations formulées en 1963 par le Sous-Comité de taxonomie de *Brucella* du Comité international de Nomenclature bactériologique. Ce système avait été mis au point pour éliminer les problèmes qui se sont posés lors de l'identification des trois espèces originales : *B. melitensis*, *B. abortus* et *B. suis*, en utilisant pour le typage des procédures classiques, notamment les besoins en CO₂, la production d'H₂S, la sensibilité aux colorants et les épreuves d'agglutination avec les antisérums mono spécifiques (FAO/OMS , 1986).

L'introduction de nouvelles méthodes, permettant l'évaluation de la sensibilité à la lyse par les phages et la mesure de l'oxydation métabolique des substrats sélectionnés a permis de résoudre tous ces problèmes et d'établir d'un système d'identification des espèces compatible avec les données épidémiologiques (Corbel et Brinley , 1982).

IV.2 Classification

Phylum : *Proteobacteria*

Classe : *Alphaproteobacteria*

Ordre : *Rhizobiales*

Famille : *Brucellaceae* (George et Garrity, 2004)

Genres : *Brucella*

Le genre *Brucella* est divisé actuellement en six (6) espèces. On distingue : *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* et *Brucella canis*. Elles ont un haut degré d'homogénéité génétique et possèdent chacune plusieurs biovars en fonction d'une relative spécificité vis-à-vis de leur espèce hôte animal naturel (Krauss 2003).

Brucella montre une proximité génétique avec quelques bactéries pathogènes ou symbiotiques des plantes du genre *Agrobacterium* et *Rhizobium*, ainsi qu'avec certains pathogènes des animaux (*Bartonella*) et avec des bactéries telluriques ou telluriques opportunistes (*Ochrobactrum*) (OIE, 2016).

Récemment, des bactéries du genre mais n'appartenant à aucune des familles connues ont été isolées chez des mammifères marins (*Brucella pinnipediae* et *B. cetaceae*). Ces bactéries auraient été à l'origine de rares cas humains (Cloeckaert et al, 2001 ; Sohn et al, 2003). Une nouvelle espèce, nommée *B. microti*, a également été isolée du campagnol commun (*Microtus arvalis*) ainsi que des renards et des sols en Europe centrale (Scholz et al., 2007). *B. inopinata* que Roman isola d'implant mammaire humain et d'infections pulmonaires (Scholz et al, 2010) et *B. papionis* de babouins qui avaient été livré mort-nés ont également été décrits (Adrian et al, 2014). *B. inopinata* et *B. papionis* ont été officiellement présentées comme la dixième et la onzième espèce de *Brucella*, bien que le réservoir naturel de ces isolats reste incertain.

IV.3 Bactériologie

IV.3.1 Morphologie

Les *Brucella* sont des bactéries qui se présentent sous l'aspect des petits coccobacilles à Gram négatif intracellulaires facultatifs, de 0,5 à 1,5 micron de long sur 0,4 à 0,8 micron de large relativement rectilignes avec deux extrémités, généralement isolés, rarement en paires ou en amas (OIE, 2006).

Elles ne sont ni sporulées, ni capsulées, ni flagellées, immobiles. Elles sont principalement anaérobies. La morphologie des *Brucella* est assez constante, excepté dans les vieilles cultures où des formes pléomorphiques peuvent apparaître. Les *Brucella* ne montrent habituellement pas de coloration bipolaire. Elles ne sont pas réellement acido-résistantes mais résistent à la décoloration par les acides faibles. Lors du diagnostic sur des produits pathologiques par la méthode de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Stamp, les *Brucella* apparaissent alors rouges sur fond bleu (Dabernat, 2000 ; OIE 2016).

IV.3.2 Culture

Les bactéries sont aérobies strictes mais certaines souches comme *B. abortus*, *B. ovis*, *B. neotomae* se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10% de CO₂. Les brucellas nécessitent un milieu de culture enrichi qui répond à leurs besoins nutritionnels complexes (acides aminés, magnésium, thiamine, nicotinamide...) (Bodelet, 2002).

La culture de brucella est longue : il faut toujours plus de 48 heures et même parfois plusieurs semaines (3 jours à 3 semaines) pour l'isolement de la bactérie à partir d'un produit pathologique. Ce qui retarde fortement le diagnostic (Dabernat, 2000).

La température de croissance optimale est de 34°C, mais la température tolérée peut varier entre 20 et 40°C sur un milieu adéquat, bien que les *Brucella* soient habituellement cultivées à 37°C. Le pH exigé pour la croissance varie entre 6,6 et 7,4 avec un pH optimal de 6,8 (Roux, 1989).

En milieu liquide, l'incubation de 7 jours à 37 °C, des souche lisses provoque l'apparition d'un aspect trouble modéré, uniforme et homogène, avec des fois, la formation d'un voile très fragile et d'un dépôt poudreux clair. Celle des souches rugueuses peut entraîner la formation d'un dépôt granuleux. La formation de trouble et de pellicules reste variable.

En milieux semi solide, les cultures de *B. abortus*, *B. ovis*, dépendantes de CO₂ produisent un disque de croissance de quelques millimètres au-dessus de la surface. Alors que les brucelles CO₂ indépendantes produisent un aspect trouble uniforme de quelques millimètres de la surface vers le fond (Lounes ,2007).

Des milieux solides sont préférés pour l'isolement des brucelles du fait qu'ils facilitent la reconnaissance et l'isolement des colonies. Généralement, les colonies de brucelles deviennent visibles sur ces milieux solides après une incubation de 3 à 4 jours et même parfois de plusieurs semaines. Elles sont petites, de 1 à 2 mm de diamètre, rondes, lisses, translucides, bombées à bords réguliers non hémolytiques. Elles ont parfois une couleur de miel (Dabernat, 2000 ; FAO/OMS 1986).

IV.3.3 Caractères biochimiques

Les *Brucella* possèdent une oxydase, une catalase et une 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. La production d'H₂S varie selon les espèces et les biovars. Les brucelles présentent une sensibilité différente à un certain nombre de colorants, par exemple la thionine, la fuchsine basique et le violet cristal (Lefèvre, 2003).

IV.3.4 Caractères antigéniques

IV.3.4.1 Les antigènes de surface

De même que chez les autres bactéries gram négative, l'enveloppe cellulaire des brucelles est composée d'une membrane cytoplasmique interne entourée d'une couche rigide de peptidoglycane associée à la membrane externe ; celle-ci contient principalement les phospholipides, des lipopolysaccharides et de protéines (PME) (FAO/OMS, 1986).

Le lipopolysaccharide (LPS) est l'antigène majeur des brucelles responsable du développement des anticorps détectés chez l'hôte par agglutination, fixation du complément ou ELISA (Ganière,2006). Ce LPS est caractérisé par une variation de phase, à l'origine des phénotypes lisse (S-LPS) et rugueux (RLPS).

Le complexe lipopolyosidique lisse (Le S-LPS) est retrouvé à l'état sauvage chez la plupart des espèces et biovars. Définissant les sites antigéniques (épitopes) A et M pour les brucelles lisses (smooth). Ces épitopes sont inégalement répartis selon les espèces. L'antigène A domine chez

B. abortus, M chez *B. melitensis* et existe en proportion intermédiaire et égale chez *B. suis*. Les autres espèces sont dépourvues de ces antigènes (Chenais, 2010). Les chaînes latérales polysaccharidiques (antigène O) du S-LPS sont constituées d'un homopolymère comprenant environ 100 résidus de 4-formamido-4,6-didéoxy- D- mannopyranosyl, support essentiel des réactions croisées entre *Brucella spp* et *Yersinia enterocolitica* O :9, ou plus accessoirement avec *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O :1 (Revel et al, 2005). Ces réactions croisées avec le LPS des brucelles, sont généralement à l'origine de difficulté de dépistage.

Le LPS des souches rugueuses : R-LPS possède une structure semblable à celle du S-LPS, mais la chaîne O est absente ou réduite à quelques résidus. *B.canis* et *B.ovis* possèdent naturellement un LPS de type R (Revel et al, 2005). Parfois des colonies « rough » (rugueuses et opaques) se développent, suite à une mutation spontanée provoquant une absence de LPS. Comme dans le cas de *B. ovis*, la présence d'antigènes de surface R rend impossible tout diagnostic sérologique par les méthodes usuelles utilisant un antigène *B. abortus* en phase Smooth (Ganière, 2016).

Les protéines de la membrane externe (PME), le peptidoglycane (PG) peuvent renforcer la réponse immunitaire par leurs propriétés adjuvantes (Lounes, 2007).

IV.3.4.2 Antigènes internes

Des travaux ont recensé la présence d'au moins 20 antigènes protéiques, pour la plupart d'origine intracellulaire (FAO/OMS 1986).

Des extraits protéiques d'origine cytoplasmique de *brucella* sont employés comme antigènes dans les épreuves cutanées pour l'étude de l'hypersensibilité retardée pour le diagnostic de la brucellose chronique par intradermo-réaction (Bodelet, 2002).

IV.4 Les différentes espèces de *Brucella* et leur(s) réservoir(s)

Brucella est une grande famille de bactéries, Répartie à travers les cinq continents et deux océans du globe terrestre divisée en plusieurs espèces, pouvant elles-mêmes se subdiviser en plusieurs biovars.

Chaque espèce possède un ou plusieurs réservoirs animaux préférentiels, avec une répartition géographique caractéristique. *B. melitensis* est typiquement l'agent de la brucellose des petits ruminants, retrouvée principalement dans le bassin méditerranéen et au Moyen-Orient. *B. abortus* qui cause l'avortement épizootique des bovins et *B. canis* responsable de la brucellose canine sont ubiquitaires. *B. ovis* provoque l'épididymite contagieuse du bélier (Ganière, 2016). Au-delà de ces réservoirs habituels, le spectre du pouvoir pathogène des différentes espèces de brucelles est très large. Chaque espèce peut infecter des hôtes moins spécifiques. À titre d'exemple, *B. abortus* est loin de « se cantonner » aux bovins, et a déjà été détectée chez des ovins, des caprins, des rennes, des bisons, des zébus, des buffles, des cerfs, des chamois, des sangliers, des chevaux, des chiens, des rongeurs... (Jouan, 2016). Le rôle de certaines espèces animales dans l'épidémiologie de la brucellose est mal connu (El-Tras, 2010).

Des études génétiques et immunologiques indiquent que toutes les espèces et biovars du genre *Brucella* sont très proches. Ce qui indique que tous ces derniers seraient, en réalité, des biovars de *B. melitensis*. Néanmoins, il existe de réelles différences en termes de préférence d'hôte et d'épidémiologie pour les différentes espèces aussi bien qu'une réelle diversité génomique (OIE, 2016 ; Maurin, 2007).

V Épidémiologie

La brucellose est une importante zoonose sur le plan mondial. Bien qu'éradiquée ou en voie de l'être dans de nombreux pays industrialisés, cette maladie constitue encore de nos jours une source de préoccupation dans les pays en voie de développement. Ceci est particulièrement vrai dans les pays dont l'alimentation et l'économie dépendent en partie de l'élevage (OMS, 2006 ; OIE, 2007).

V.1 Épidémiologie analytique

V.1.1 Espèces animales affectées

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

V.1.2 Sources de contagion

Les sources de contagion sont tous les bovins infectés, malades ou apparemment sains (puisque'ils peuvent rester porteurs à vie). Mais la contagiosité est variable et souvent intermittente : elle est maximale durant la période de reproduction, la phase la plus dangereuse étant la vidange de l'utérus gravide. Tout animal sensible infecté peut aussi être source de contamination (Marie et *al* ,2006).

D'autres espèces animales peuvent constituer une source de contagion : ovins, caprins, suidés, chiens, ruminants sauvage...etc. Et d'un point de vue général, toute espèce sensible infectée, peuvent être la source de contamination d'un cheptel bovin.

Les mâles jouent un rôle important dans la dissémination et la persistance de l'infection car ils sont souvent porteurs (OIE, 2008). L'Homme infecté, n'est pas une source d'infection pour les animaux. Il représente une impasse épidémiologique.

V.1.3 Matières virulentes

Le contenu de l'utérus gravide représente la matière virulente essentielle, expulsé dans le milieu extérieur suite à un avortement ou à l'occasion d'une mise bas apparemment normale. Tout le contenu de l'utérus gravide est virulent : l'avorton, le placenta, les eaux fœtales, en raison du tropisme des brucelles pour les organes génitaux femelles. L'excrétion virulente est cependant transitoire. Elle commence à apparaître dès le début de travail de la femelle lors la liquéfaction du bouchon muqueux, elle passe par son maximum lors de l'expulsion des eaux fœtales, avorton, placenta et lochies, elle disparaît le plus souvent au bout de 2 à 3 semaines chez les bovins (Ganière, 2016).

Les sécrétions vaginales représentent également une matière virulente essentielle. Elles peuvent contenir des brucelles dans la période du *péripartum*, parfois au moment des chaleurs. De même l'urine est fréquemment virulente en période de mise-bas ou bien au moment de l'avortement par suite de sa contamination par les sécrétions vaginales. Et enfin, il existe une excrétion transitoire (quelques jours après la mise bas) et discrète dans l'espèce bovine (surtout importante après un avortement) de bactéries dans le lait et le colostrum.

En l'absence de signes de localisation des brucelles aux organes génitaux chez le mâle, il peut y avoir une excrétion de *Brucella* dans le sperme. Des bactéries sont parfois présentes dans les produits de suppuration (hygromas), dans les fèces (jeunes nourris avec du lait infecté), et dans les viscères infectés (contamination humaine) (Ganière, 2016).

V.1.4 Résistance

Au-delà de son réservoir animal. Il convient également de considérer une éventuelle survie des brucelles dans l'environnement qui peut également jouer un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie. La survie de *Brucella* est influencée par différents éléments tels que la température, le pH ou encore l'humidité (FAO, 2005). Le genre *Brucella* offre une grande résistance à la température ordinaire et basse (4 à 21°C), mais est détruit par les rayons solaires et la pasteurisation. Il est sensible aux désinfectants usuels (soude, hypochlorite), à de nombreux antibiotiques et au pH faible (détruits par les ferments lactiques) (Bonfoh et al., 2002). Bien que les *Brucella* soient sensibles à la pasteurisation, elles peuvent résister plusieurs semaines à plusieurs mois dans les matières virulentes et le milieu extérieur (pâturages, points d'eau, lisier...).

Dans les substances d'origine animale, la survie des brucelles peut atteindre 30 jours dans les urines, 75 jours dans un avorton, 120 jours dans les déjections et plus de 200 jours dans l'exsudat utérin. Également la survie des *Brucella* peut durer deux ou trois mois dans un sol humide et trois ou quatre mois dans les fèces (Ganière et al., 2016). Toutefois, les brucelles possèdent une capacité de survie relativement importante et élevée par rapport à la plupart des autres groupes de bactéries pathogènes non sporulantes et sur des durées non négligeables lorsque les conditions sont favorables.

V.1.5 Modes de transmission

Il existe de nombreux modes de transmission de la brucellose entre animaux.

La transmission peut être verticale, *in utero* ou lors du passage dans la filière pelvienne d'un veau viable mais infecté. Chez les jeunes, l'infection disparaît généralement sauf dans 5-10 % des cas (infection persistante sans réaction sérologique décelable). Les signes cliniques n'apparaîtront que chez les jeunes femelles infectées lors de leur première gestation ou plus tard.

La transmission peut être horizontale, directe par contact lors de cohabitation, ou par ingestion (d'eau, de nourriture, de colostrum ou de lait contaminé) par voie aérienne ou des créosoles contaminés pénètrent par la muqueuse conjonctivale ou via les voies respiratoires supérieures ou encore par voie vénérienne, lorsque les mâles excrètent des bactéries dans leur sperme ou indirecte par l'intermédiaire des locaux, pâturages, aliments, eaux et matériels ou par léchage de placentas, avortons ou appareils génitaux (Attieh, 2007).

V.1.6 Voies de pénétration

De nombreuses portes d'entrées sont possibles. La pénétration de la bactérie se fait donc par voie cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive ou vénérienne (Lefevre et *al*, 2003).

V.2 Epidémiologie synthétique

La contamination des cheptels indemnes se fait surtout à l'introduction d'un bovin infecté inapparent et par la transhumance, ainsi que par les échanges commerciaux et le prêt de mâles. Elle est aussi possible par des pâtures ou des bergeries contaminées. L'extension de l'infection dans les troupeaux a lieu au cours de la période des mises bas. De plus, la conservation des jeunes femelles nées de mères infectées est à l'origine de résurgences dans les cheptels assainis (5 à 10 % hébergent des brucelles). Parfois, il y a intervention d'autres espèces comme les ovins et le caprins en particulier (Delafosse et *al*, 2002 ; Ganière, 2016).

Chez les bovins, une fois introduite, l'infection peut se répandre largement et s'étendre à la majorité des animaux notamment en période de mise-bas. La maladie peut s'exprimer de différentes façons : par des avortements en série avec une expression épizootique de la maladie, la propagation progressive de l'infection à la majorité des animaux, associée ou non à des avortements détectables par sérologie (mode enzootique). La maladie devient alors enzootique, caractérisée par des avortements sporadiques et des rétentions placentaires (Marie et *al*, 2006).

V.3 Pathogénie

Les *Brucella* sont des bactéries intracellulaires facultatives. La pénétration se fait généralement via les muqueuses orales, du nasopharynx, des conjonctives, par voie génitale et parfois, au travers des abrasions ou des lésions cutanées (Godfroid et *al.*,2003). Il est possible de distinguer très schématiquement dans l'évolution de l'infection brucellique deux périodes : primaire et secondaire (Ganière, 2016).

V.3.1 Période primaire

La période primaire suit la contamination. Elle évolue en 3 étapes :

- **Première étape de multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques de la porte d'entrée :** Suite à la contamination, il y a d'abord une réaction inflammatoire aiguë de la sous muqueuse avec infiltration leucocytaires où les *brucella* vont être ingérées par les neutrophiles et les macrophages qui les transportent vers les ganglions lymphatiques locaux, il se produit donc une extension par voie lymphatique aux nœuds lymphatiques locaux où les bactéries peuvent persister pendant très longtemps (Godfroid et *al.*,2003).
- **Seconde étape de dissémination lymphatique et sanguine de la bactérie :** Au bout de quelques jours à plusieurs semaines, une fois que les bactéries soient parvenues dans la circulation et si elles ne sont pas éliminées, elles se disséminent par voie sanguine ou lymphatique dans les différentes parties de l'organisme jusqu'à atteindre divers organes à cause de leur tropisme particulier pour les cellules du système réticuloendothéliale. L'animal présente alors une bactériémie généralement discrète et fugace, à partir de laquelle il est très difficile d'obtenir une hémoculture positive.
- **Troisième étape de localisation et la multiplication des *Brucella* en certains sites électifs :** Suite à la bactériémie, l'infection atteint certains sites électifs à savoir : les tissus lymphoïdes (notamment les nœuds lymphatiques de la sphère génitale mammaire), le placenta chez les femelles gravides, les testicules et ses annexes (épididyme, etc.) chez le mâle ; la glande mammaire et les bourses séreuses et synoviales (bourses carpiennes) et certaines articulations (Ko et Splitter, 2003).
- La présence de méso-érythritol dans les testicules et les vésicules séminales des taureaux, ainsi que dans les produits de la conception chez le ruminant stimule énormément la

multiplication de *brucella*. Ce facteur influence la localisation des bactéries au sein des organes reproducteurs (Corner et Alton, 1981).

Plusieurs études suggèrent que LPS de *Brucella* serait l'agent responsable d'avortement chez les bovins. L'infection du fœtus induirait une augmentation du taux de cortisol fœtal conduisant à un shift hormonal responsable à son tour de l'avortement ou de la mise bas prématuré (Lefevre, 2003).

V.3.2 Période secondaire

La période secondaire se caractérise par le développement d'une immunité chez l'hôte qui lui confère une certaine résistance conduisant rarement à la guérison. En effet, les *Brucella* peuvent survivre plusieurs années dans certains sites privilégiés, comme dans les nœuds lymphatiques, toute en demeurant à l'intérieur des cellules phagocytaires, à l'abri des défenses immunitaires. À la faveur des gestations ultérieures, un réveil des pathogènes peut avoir lieu, conduisant à un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise bas. Lorsque des bactéries persistent au niveau des séreuses et des articulations, un hygroma ou une arthrite chronique peuvent se développer.

V.3.3 Survie de brucella dans les cellules phagocytaires

Les mécanismes moléculaires de virulence de *Brucella* permettent l'invasion de la bactérie, l'échappement à la lyse par les phagocytes lui procurant ainsi, une niche intracellulaire pour sa réplication (Gorvel et Moreno, 2002 ; Michaux-Charachon et *al.*, 2002). La localisation intracellulaire permet à la bactérie d'échapper aux défenses immunitaires, ce qui rend la maladie chronique. *Brucella* a la capacité de se répliquer dans les cellules phagocytaires, en utilisant les mêmes mécanismes que ceux utilisés dans le macrophage à son avantage (Detilleux et *al.*, 1990 ; Rabinovitch, 1995 ; Liautard et *al.*, 1996). Après avoir été phagocytée par un macrophage, la bactérie se retrouve dans un phagosome précoce, puis dans un autophagosome où elle est capable de se multiplier tout en inhibant la fusion phagolysosomiale (Lefevre, 2003). Dans le macrophage, environ 90% des bactéries sont détruites par fusion d'autophagosome avec les lysosomes, mais les 10 % restants sont capables de rejoindre le RE et d'y établir une niche répliquative, suffisante pour maintenir la survie de la bactérie dans le macrophage (Michaux-Charachon et *al.*, 2002). De plus, l'acidification rapide et importante (pH 4) du phagosome semble être un signal inducteur de facteurs de virulence essentiel pour la bactérie (Michaux-Charachon et *al.*, 2002). Une fois la niche intracellulaire de réplication établie, les bactéries vont tenter de se maintenir dans la cellule le plus longtemps possible en inhibant l'apoptose (Michaux-Charachon et *al.*, 2002).

De nombreux bovins sont naturellement résistants à la brucellose. Il existe une corrélation entre la résistance naturelle de ces bovins et les propriétés de leurs macrophages et monocytes circulants. Les bovins résistants contrôlèrent donc mieux la réplication intra cellulaire de *brucella* dans ces macrophages (Lefevre, 2003).

VI Symptômes

La brucellose est une maladie subaiguë ou chronique qui affecte nombreuses espèces animales. Chez les bovins, les moutons, les chèvres, les autres ruminants et les porcs : À la suite de l'infection, la bactérie se propage dans les systèmes sanguin et lymphatique de l'animal, infectant de nombreux tissus, plus particulièrement les organes reproductifs, les glandes mammaires et les articulations (Corbel, 2006). L'incubation est très variable, elle peut durer quelques jours à plusieurs mois. La maladie est généralement asymptomatique chez les femelles non gestantes. Après infection par *B. abortus* ou *B. melitensis*, les femelles adultes gestantes développent une placentite conduisant généralement à l'avortement entre le 6^e et le 9^e mois de gestation (le dernier tiers de gestation). Même en l'absence d'avortement, une importante quantité de bactéries est excrétée dans le placenta, les sécrétions vaginales et fœtales (OIE, 2005).

En général, le fœtus est rejeté facilement en l'absence de toute dystocie. Les eaux fœtales peuvent apparaître troubles et parfois jaunâtres ou ocres, ces colorations font suite à l'expulsion du méconium *in utero* par le fœtus souffrant d'anoxie. Lorsque l'avortement survient avant le 6^e mois L'avorton est toujours mort et parfois momifié. Au-delà, le fœtus peut-être vivant, mais ne survit que quelques heures (Ganière, 2016). La mise-bas peut avoir lieu quelques jours avant le terme donnant naissance à un prématuré : le nouveau-né peut succomber néanmoins dans les 24 à 48 heures du fait des lésions nerveuses secondaires à une hypoxie. La rétention placentaire est fréquente après avortement (adhérences utéro-choriales et fragilité des enveloppes), mais elle peut être le seul symptôme lorsque l'infection est ancienne. Des lésions d'endométrite peuvent être responsables d'infécondité temporaire (Ganière, 2016). La glande mammaire et les nœuds lymphatiques associés peuvent aussi être infectés et les *Brucella* peuvent être excrétées dans le lait.

La plupart des animaux avortent durant la première gestation qui suit l'infection brucellique. Néanmoins, Les gestations suivantes sont généralement menées à terme mais l'infection utérine et mammaire demeure, avec une quantité réduite de *Brucella* excrétée dans les produits génitaux et mammaires (l'OIE, 2005).

Les bovins mâles adultes peuvent développer des infections testiculaires (orchite ou orchio-épididymite) qui réduisent par la suite leur fertilité. C'est la raison pour laquelle la brucellose peut être l'origine d'infertilité dans les deux sexes (Corbel, 2006). Certains animaux infectés peuvent développer des infections articulaires. Il peut s'agir d'hygroma impliquant généralement les articulations des membres (fréquente au genou) ; qui constitue une manifestation classique de la brucellose dans certains pays tropicaux et peut être le seul signe de l'infection comme c'est le cas pour certaines régions de l'Afrique chez les troupeaux de nomades suite à l'infection par *B. abortus* biovar 3 ou d'arthrite (arthrites d'évolution chronique ponctuées par des poussées aiguës). Ces animaux peuvent alors avoir les articulations enflées, ils peuvent boiter et ils risquent d'être moins productifs.

La brucellose bovine est habituellement due à l'un des biovars de *Brucella abortus*. Dans certains pays, particulièrement en Europe méridionale et en Asie occidentale, où les bovins sont au contact étroit des ovins et des caprins, l'infection peut également être causée par *B. melitensis*. Occasionnellement, *B. suis* peut induire une infection mammaire chez les bovins, mais il n'a pas été rapporté d'avortement (Ewalt et al, 1997).

VII La réponse immunitaire

Brucella est un agent pathogène, qui induit chez son hôte une réponse immunitaire humorale mais également, du fait de son tropisme intracellulaire, une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Le LPS, contrairement à la majorité des protéines, est un antigène dit « T-indépendant », ceci signifie que les anticorps dirigés contre lui n'ont pas besoin d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire pour être synthétisées (Lefevre, 2003).

L'amplitude et la durée de ces réponses dépendent de nombreux facteurs : virulence de la souche infectante, taille de l'inoculum, âge, sexe, stade de gestation, espèce et état immunitaire de l'hôte (FAO/OMS ,1986). Les deux types de réponses immunitaires, présentent un intérêt au plan du diagnostic.

VII.1 Réponse humorale

La réponse humorale dirigée contre *Brucella* est généralement similaire dans toutes les espèces animales infectées. Cette réponse est principalement dirigée contre l'antigène majeur de *Brucella*, à savoir son LPS et plus particulièrement sa chaîne (Lefevre, 2003). Le LPS de la membrane externe est responsable du développement des anticorps détectés chez l'hôte par agglutination, fixation du complément ou ELISA (Gassin M. et Courtieu, 1978). Ces anticorps anti-LPS interviennent dans la protection grâce à l'induction de la lyse bactérienne par la voie classique du complément et par l'opsono-phagocytose. La bactérie opsonisée serait également plus rapidement phagocytée. De plus l'opsonisation des *Brucella* change leur capacité à survivre dans les cellules phagocytaires (Lefevre, 2003).

Une réponse se développe aussi en produisant des immunoglobulines reconnaissant des protéines de la membrane externe et les protéines localisée dans le périplasme ou le cytoplasme, mais plus tardivement et d'une manière hétérogène (absence de déterminant antigénique unique) que celle qui est dirigée contre le LPS des bactéries. Les anticorps sériques apparaissent, chez un bovin pubère, 30 jours à 3 à 6 mois après infection ; ils sont de type IgG (IgG1, IgG2), Ig M et IgA (FAO/OMS, 1986).

Les IgM apparaissent en premier dans les premières semaines suite à l'infection brucellique, et sont rapidement suivies par les IgG. Les IgG1, sont les plus abondantes dans le sérum et leur concentration dépasse celle des IgG2 (FAO/OMS ,1986). Il est possible de détecter dans le lait des Ig A sécrétoires, produites localement par la mamelle. Il en est de même pour le sperme du taureau. Bien que la plupart des IgA soient présentes sous forme sécrétoire. Les concentrations en IgA dans les sérums bovins sont généralement très faibles (FAO/OMS ,1986).

Chez les jeunes femelles bovines infectées, la réaction sérologique n'est parfois décelable qu'après la première mise-bas. Ils peuvent persister toute la vie de l'animal (intérêt diagnostique de la détection des IgG1) (Ganière, 2006).

VII.2 La réponse cellulaire

Lors d'une infection par *Brucella*, on observe également le développement d'une immunité à médiation cellulaire (IMC). Cette réponse est exclusivement dirigée contre les protéines contrairement à la réponse humorale qui, suite à une infection brucellique, est dirigée à la fois contre le LPS et contre les protéines bactériennes.

Les macrophages infectés produisent plusieurs cytokines comme le $\text{TNF}\alpha$ qui participe au contrôle de l'infection chronique, mais qui ne présentent aucune importance dans le développement d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire. L'IL-12 est considérée comme la cytokine-clé pour le déclenchement de cette dernière. Par la suite les lymphocytes précurseurs se différencient en lymphocytes de type 1 caractérisés par la production de TNF et IL-2 et d'IgG2a. Ces lymphocytes de type 1 se divisent en lymphocytes helpers CD4^+ et cytotoxiques CD8^+ , qui jouent un rôle important dans le contrôle de l'infection brucellique. Suite à une stimulation antigène-spécifique, ces derniers prolifèrent et produisent de l'IL-12 et de l'IFN. Ce dernier produit par ces deux types de lymphocytes stimule les macrophages afin de potentialiser leurs activités bactéricides en augmentant la production des radicaux libres et de $\text{TNF}\alpha$. Elle stimule aussi les capacités bactéricides des PMNs. Elle induit également le changement isotopique caractéristique d'une réponse de type 1 (la production d'IgM est remplacée par la production IgG2a et IgG3). Ces deux classe d'anticorps sont de très bons activateurs du complément et présentent une forte affinité pour les récepteurs FC, ce qui facilite la phagocytose de *Brucella* opsonisées (Lefevre, 2003 ; FAO/OMS, 1986). Cette immunité à médiation cellulaire est contemporaine de la réaction d'HSR. Compte tenu de la capacité des souches virulentes à se maintenir dans les macrophages et les leucocytes polynucléaires, on peut penser que l'immunité repose sur l'acquisition d'une activité bactéricide accrue par ces cellules phagocytaires (Ganière, 2006).

VIII Diagnostic

VIII.1 Diagnostic épidémiologie-clinique

Vu le grand polymorphisme des manifestations cliniques qui sont peu spécifiques, on ne peut que suspecter la brucellose au sein d'un cheptel en cas d'avortements tardifs (autour du 6^e et 7^e mois) isolés ou qui prennent une allure épizootique (70 à 80 % des femelles avortent) avec une fréquence élevée de rétention placentaire (partielle ou totale) avec des lésions de placentite non pathognomonique (nécrose cotylédonaire, œdèmes, il devient opaque et prend un aspect de cuir) , ainsi que des veaux présentant des symptômes d'anoxie dans les 48 heures suivant les mise-bas avec infiltration œdémateuse ou séro-hémorragique du tissu sous-cutané . Dans les troupeaux affectés, 10 à 25 % des vaches avortent une deuxième fois (Noémie et *al*, 2010 ; Ganière 2016). On peut noter aussi une stérilité ou une prolongation des intervalles (vêlage –vêlage), des mammites, et des échecs répétitifs à l'insémination artificielle (Ouedraogo, 2001).

Les mâles peuvent avoir des lésions d'orchite et/ou d'épididymite avec une hypertrophie testiculaire qui peut conduire à une atrophie, de la fibrose et des adhérences. Ainsi qu'une baisse de la libido voire de la stérilité, en plus des lésions d'arthrites et des hygromas dans deux sexe (Noémie et *al*, 2010).

VIII.2 Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de la brucellose repose sur les maladies abortives d'origine infectieuse (campylobactériose, salmonellose, fièvre Q, chlamydiose, listériose, leptospirose, rhinotrachéite infectieuse, maladie des muqueuses...), ou d'origine parasitaire (toxoplasmose, néosporose, trichomonose chez les bovins soumis à la monte naturelle, aspergillose.etc.). Les maladies d'origine alimentaire ou traumatique doivent être également prises en considération (Dean et *al*, 2013).

Vu la longue période asymptomatique, qui caractérise une infection brucellique, ainsi que la nature subclinique de la maladie chez la plupart des animaux, le diagnostic de la brucellose est principalement un diagnostic de laboratoire (Fensterbank et *al*, 1986).

VIII.3 Diagnostic expérimental

Il peut être direct ou indirect.

VIII.3.1 Prélèvements

Les prélèvements à mettre en œuvre diffèrent selon les situations :

Cas d'un avortement : associer une recherche bactériologique et une recherche sérologique.

a) Pour la recherche bactériologique, il est possible de réaliser

- Un écouvillonnage du col de l'utérus
- Un prélèvement du matériel d'avortement (placenta, avorton) : Le prélèvement de quelques calottes placentaires (si possible présentant des lésions : nécrose...) à partir du placenta, ou éventuellement utiliser l'avorton (entier ou estomac ligaturé, poumons et rate).

b) Pour la recherche sérologique, un prélèvement sanguin sur tube sec doit être réalisé (recherche des anticorps).

Confirmation d'une suspicion : les prélèvements (placenta, lait ou colostrum, liquide spermatique, liquide de ponction d'hygroma ... sur animal vivant, ou des nœuds lymphatiques et autres tissus sur l'animal abattu à des fins diagnostiques) sont choisis dans le but de rechercher et d'identifier les brucelles.

Cas d'une opération de dépistage (recherche des anticorps sur bovins de plus de 12 mois) : prélèvements sanguins sur tubes secs (opérations de prophylaxie, contrôle d'achat) ou lait de mélange prélevé dans le tank de l'élevage (opérations de prophylaxie dans un cheptel laitier).

Les prélèvements doivent être collectés et expédiés dans des conteneurs étanches, afin d'éviter tout risque de contamination du manipulateur. La conservation doit se faire sous froid (mais pas de congélation). Ils sont expédiés le plus rapidement possible au laboratoire agréé. Ils doivent être aussi identifiés et accompagnés d'une demande d'analyse mentionnant le nom, le prénom, l'adresse, le numéro de l'exploitation de provenance et le code de l'animal sur lesquels ils ont été prélevés (OSAV, 2014 ; Ganière, 2016).

VIII.3.2 Diagnostic direct

Il s'agit de l'isolement de l'agent pathogène à partir des produits de prélèvements et parmi les moyens bactériologiques de diagnostic de la brucellose bovine, on peut citer : la bactérioscopie, la culture et la biologie moléculaire.

VIII.3.2.1 La bactérioscopie

La bactérioscopie est basée sur le fait que les brucelles possèdent un caractère légèrement acido-résistant, leurs permettant ainsi de fixer un colorant après traitement avec un acide organique dilué. La méthode consiste à fixer sur lame les prélèvements par la chaleur à 37°C ou à l'éthanol puis à les colorer par la méthode de Koster et Stamp ou par immunofluorescence. Au microscope, les germes apparaissent rouges-orangés sur un fond bleu, isolés ou groupés. Cependant, ces méthodes présentent une faible spécificité car d'autres bactéries responsables d'avortements, comme *Chlamydomphila abortus* ou *Coxiella burnetii*, sont difficiles à différencier des *Brucella*. De même, ces méthodes présentent aussi une faible sensibilité pour le lait et les produits laitiers où les *Brucella* sont le plus souvent en faible quantité et l'interprétation est fréquemment rendue difficile par la présence de globules gras (Roop et al, 1987).

La bactérioscopie peut être utilisée pour l'examen de prélèvements suspects : liquide d'hygroma, enveloppes fœtales, avortons etc. (OIE ,2005). Les résultats, positifs ou négatifs, doivent dans tous les cas être confirmés par culture.

L'immunofluorescence directe utilise un sérum anti-brucella conjugué à l'isothiocyanate de la fluorescéine pour mettre en évidence les brucelles toute en les colorant. L'observation se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence. Les brucelles apparaissent alors comme des bactéries fluorescentes jaune-verts (Detilleux et *al.* 1990).

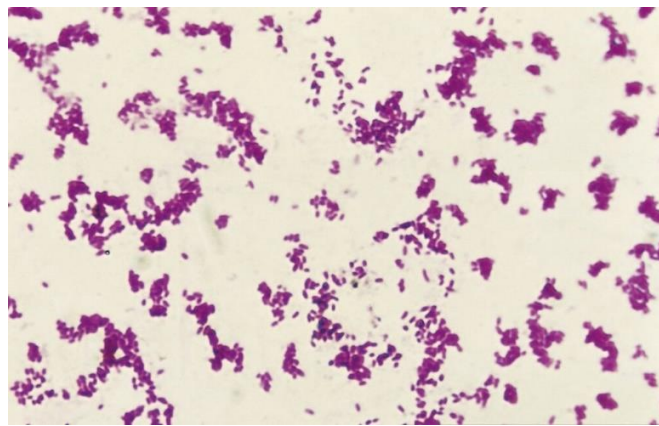


Figure 3 : aspect microscopique des bactéries du genre *Brucella* (Larry, 2002).

VIII.3.2.2 La culture

La culture vise l'isolement et l'identification du germe. L'isolement des *Brucella* se fait sur milieu sélectif (milieu de Farrell). L'addition d'antibiotiques appropriés au milieu de culture permet d'éliminer d'éventuels contaminants présents dans les prélèvements biologiques. L'incubation est faite à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et en présence de $8\% \pm 2\%$ de CO_2 , *B.abortus* en étant dépendante pour sa croissance. On observe un trouble homogène, puis la formation d'un voile transitoire dans le cas d'une réaction positive en milieu liquide. En milieu solide (milieu de Farrell), il s'agira de fines colonies de 1 à 2 mm de diamètre. Elles sont bombées, translucides de couleur de miel en lumière, lisse et luisante (Ben Hamouda, 2007 ; Dabernat et *al.*,2000). Une culture sur milieu de Farrell est considérée comme négative si aucune colonie suspecte n'est observée après 10 jours d'incubation. L'identification et le typage seront ensuite effectués à partir des caractères bactériologiques et différentiels des brucelles. Trois tests biochimiques sont utilisés en routine pour l'identification des colonies de brucella : la recherche de l'oxydase, de la catalase et de l'uréase (Lefevre, 2003).



Figure 4 : culture de *Brucella abortus* (Todd, 2010).

VIII.3.2.3 Biologie moléculaire (PCR)

C'est une technique d'identification des acides nucléiques par amplification en chaîne par une polymérase d'une séquence nucléotidique cible (séquence d'insertion IS711). Elle est réalisée à partir de différents échantillons de sang, lait, sécrétion nasale, rate, sperme, ganglions lymphatiques et fœtus avorté ou après isolement pour identifier la *Brucella* (Bounaadjia, 2010).

La difficulté principale provient de la présence possible d'une quantité trop importante d'ADN pouvant interférer dans la PCR selon l'origine des échantillons (Probert et *al.*, 2004).

La PCR permet également de différencier des souches de *B. abortus* sauvages des souches d'origine vaccinales B19 et RB51. D'autres techniques moléculaires comme la RFLP, le Southern Blot, permettent également la détection et l'identification des espèces de *Brucella* et de leurs biovars (Bounaadjia, 2010).

VIII.3.3 Diagnostic indirect

Les moyens sérologiques consistent à rechercher les témoins de l'infection. Les anticorps apparaissent aussi bien à la suite d'une infection qu'après une vaccination. Il faut donc prendre en considération ce point lors l'interprétation de la positivité des réactions sérologiques.

Le diagnostic indirect de la brucellose peut faire appel à plusieurs techniques sérologiques et peut être réalisé à partir du sérum et du lait essentiellement. Ces tests font intervenir des suspensions antigéniques de cellules entières inactivées de *B. abortus* biovar 1 en phase S. Les anticorps détectés sont alors pour la plupart, spécifiques d'épitopes portés par le LPS-S, et en partie par le LPS-R et certaines protéines membranaires (Bounaadja, 2010). Le diagnostic indirect est couramment utilisé pour le dépistage de la brucellose bovine et humaine dans le but de rechercher l'infection brucellique, d'en connaître la prévalence et la distribution et, dans les pays où l'éradication est acquise, de surveiller l'absence de recontaminations. Il met en jeu des épreuves sérologiques et allergiques, et la recherche de l'agent par bactériologie (Fensterbank, 1986).

VIII.3.3.1 Réaction l'antigène au rose Bengale, ou antigène tamponné

C'est une technique qualitative, d'agglutination rapide directe sur lame de sérum pur avec un antigène coloré au rose Bengale en milieu acide tamponné à pH 3,6. qui repose sur le fait que la capacité des anticorps IgM à se lier à l'antigène est nettement réduite à un pH bas pour éliminer les agglutinations non spécifiques (Maurin ,2005).

C'est un test économique, simple et rapide, et peu coûteux détecte essentiellement des Ig G comme pour la FC, et parfois les IgM en fonction du mode de préparation de l'antigène. Il ne se positive jamais plus tardivement que le sérodiagnostic de Wright. Il est donc très utile dans la phase aiguë en dépistant l'infection plus précocement. De plus, il reste positif très longtemps et le demeure ainsi parfois même en cas de brucellose chronique Il donne peu de faux résultats négatifs ou positifs nécessitant FC de contrôle (ou SAW + FC). Ce test est par conséquent largement utilisé dans le dépistage et les enquêtes épidémiologiques. Cette technique est prescrite pour le dépistage des troupeaux et des animaux individuels car réputée très spécifique ($Se > 95\%$) et sensible ($Sp > 90\%$) (OIE, 2008 ; Gall et Nielsen, 2004 ; Davies, 1971).

VIII.3.3.2 La fixation du Complément (Fc)

La FC est une épreuve très largement utilisée pour diagnostiquer la brucellose chez les bovin, les ovins et le caprins. Elle est acceptée comme épreuve de confirmation. Détectant les anticorps des classes IgG1 et IgM (plus ou moins éliminés selon les modalités de chauffage du sérum). Ce test présente une grande sensibilité (98%) vis-à-vis des anticorps brucelliques produits par les animaux naturellement infectés pour lesquels, il constitue un test hautement spécifique et le plus précis, permettant une distinction relative entre anticorps vaccinaux et infectieux en raison que la FC présente l'avantage d'être relativement insensible aux anticorps vaccinaux produits après avoir injecté des vaccins vivants atténués aux animaux, préparés à partir de la souche B19 de *B abortus* ou de la souche REV1 de *B. melitensis* (Fensterbank, 1986 ; OIE, 2005 ; OIE, 2008) .

La sensibilité et la spécificité du (Fc) sont bonnes mais il s'agit d'une méthode complexe qui présente l'inconvénient d'être délicate et longue à exécuter et qui nécessite un bon équipement de laboratoire et un personnel suffisamment entraîné au titrage précis et à l'entretien des réactifs, ce qui ne permet malheureusement pas souvent son utilisation comme épreuve de base (Fensterbank, 1986 ; OIE, 2005).

VIII.3.3.3 Épreuve de l'anneau ou ring test

Le ring test, est une épreuve simple, utilisable sur le lait individuel ou sur le mélange de lait provenant de différents bovins. Elle présente l'avantage d'être pratique, rapide, renouvelable et peu coûteuse, permettant le dépistage systématique de la brucellose dans des troupeaux bovins infectés. Ce test est également très utile dans les enquêtes épidémiologiques, les programmes de lutte, la surveillance des troupeaux et l'élimination des animaux atteints (Bodelet, 2002).

Il s'agit d'une méthode qualitative consistant à agglutiner les anticorps contenus dans le lait en présence d'un antigène coloré à coloré par l'hématoxyline. Elle détecte les immunoglobulines du lait, soit provenant du sang par filtration (IgM), soit produites localement dans la mamelle (IgA), organe qui compte parmi les plus fréquemment infectés (McCaughey, 1972). L'agglutination forme alors un anneau coloré sur la crème du lait. Les agglutinats colorés adhèrent aux globules gras qui, en s'élevant dans le lait, forment un anneau teinté, d'où le nom donné à l'épreuve. La colonne de lait sans crème située au-dessous de la crème retrouve, totalement ou partiellement, sa couleur blanche d'origine. Dans le cas où le prélèvement est négatif, l'antigène se trouve dispersé dans la colonne de lait écrémé qu'il colore en bleu, et l'anneau de crème reste blanc (Alton et al, 1992). La rapidité de la réaction est

en fonction de l'âge du lait testé et de sa teneur en matières grasses. Elle est plus rapide sur un lait frais et est accélérée par incubation à 37°C (lecture en 30 minutes).

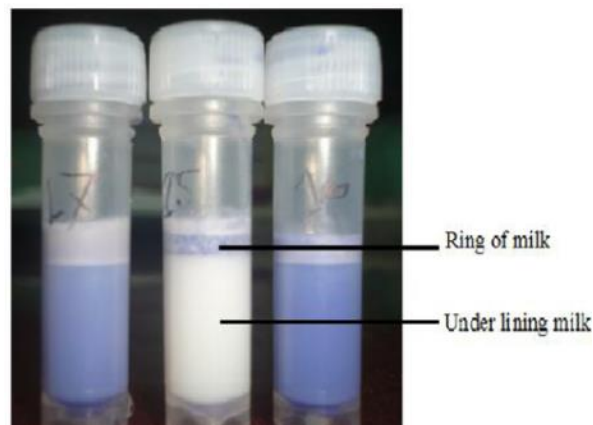


Figure 5 : Le test de l'anneau ou ring-test (Rahman, 2012).

VIII.3.3.4 ELISA

Le test ELISA est une méthode immuno-enzymatique qui offre une excellente sensibilité et spécificité. En plus de pouvoir être automatisée elle possède une bonne reproductibilité, Cette réaction a pu être appliquée avec succès au dépistage de la brucellose bovine et permet même de détecter les anticorps du lait avec une sensibilité supérieure à celle du Ring Test (Valette, 1987).

De bons résultats ont été obtenus en matière de diagnostic chez les bovins, ovins et caprins avec les méthodes immunoenzymatiques (ELISA) indirects ou de compétition, en utilisant divers antigènes, soit des corps bactériens soit des antigènes solubles. Une protéine périplasmique hautement immunogène de *B. abortus* et *B. melitensis* a été utilisée également pour le diagnostic de la brucellose dans différentes espèces hôtes (OIE ,2005). 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 ou des animaux infectés par des bactéries croisant au plan antigénique.

Les sérums positifs ou douteux à l'EAT au RB sont testés à l'ELISA car ce test est spécifique (Ibrahim et Niang, 2011).

L'ELISA de compétition est très spécifique et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux. Utilisable pour la confirmation sur les animaux vaccinés.

L'ELISA indirect est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des vaccinés et est donc plutôt utilisé en dépistage (Marie et *al*, 2006).

VIII.3.4 Diagnostic allergique

Un extrait antigénique de *Brucella* permet de révéler l'état d'hypersensibilité retardée qui se développe dans un organisme entré en contact avec les brucelles. Son intérêt se situe essentiellement dans le diagnostic de la brucellose chronique (Maurin ,2005). Après injection intradermique de la substance allergène (la mélitine), une réaction se développe, caractérisée par une induration ou un épaissement de la peau avec de l'œdème au point d'injection. Parfois, il apparaît une zone de nécrose au point d'inoculation.

C'est un test spécifique qui permet de considérer comme infecté tout bovin non vacciné et séronégatif mais ayant réagi à l'épreuve cutanée allergique. Quelquefois positif quand la sérologie est négative. Toutefois, un animal à sérologie positive peut être négatif à l'épreuve allergique, ce qui conduit à ne pas recommander cette épreuve comme épreuve unique de diagnostic ou pour le contrôle des échanges internationaux (OIE,2005 ; Pouillot et *al*,1997).

IX Prophylaxie

En médecine vétérinaire, on ne traite pas souvent un animal atteint de brucellose. Ceci pour des raisons d'efficacité et de rentabilité du traitement. Ainsi, donc, la lutte anti-brucellique chez les animaux sera basée avant tout sur la prophylaxie. En réalité pour donner des résultats appréciables, une lutte anti-brucellique doit s'étendre à toutes les espèces sensibles.

La brucellose est une zoonose surtout répandue dans l'espèce bovine qui constitue ainsi la plus importante source d'infection humaine. Cette prophylaxie reste conforme au schéma général de la prévention dans le domaine des maladies infectieuses, avec toutefois ses particularités (la prophylaxie sanitaire puis la prophylaxie médicale).

IX.1 Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire se base sur le dépistage de l'infection et la neutralisation des sources de contagion (les malades et les infectés) par la destruction des sources d'infection qui intéressent les différents aspects de l'infection, pour s'opposer à la persistance des sources de germes (Akayezu, 1984). Cette prophylaxie utilise aussi bien des moyens défensifs qu'offensifs.

IX.1.1 Les moyens défensifs

Concourent à limiter l'extension de l'infection par la protection des exploitations saines et assainies de brucellose contre tout ce qui peut être à l'origine de leur contamination. Pour ce faire, il est préconisé :

- Un contrôle sérologique qui doit être régulièrement effectué au sein des cheptels pour s'assurer de leur état indemne.

Ou éventuellement de dépister précocement les premiers cas de brucellose. À l'aide de tests sérologiques. Selon les résultats du dépistage, les moyens offensifs seront oui ou non mis en œuvre.

- Les avortements et toute affection de l'appareil génital mâle sont obligatoirement déclarés aux services vétérinaires afin de réaliser des prélèvements afin d'établir un diagnostic précoce de la maladie et l'application des mesures nécessaires.

- L'achat des animaux en provenance des régions infectées pour les introduire au sein d'autres troupeaux doit être interdite.

- Ne pas autoriser l'introduction que des bovins en provenance de cheptels présentant toutes les garanties sanitaires.

- Avant l'introduction des nouveaux animaux au sein de l'exploitation ou dans un pays, ces derniers doivent être mis en quarantaine. Pendant ce temps : ils subissent des examens cliniques et des contrôles sérologiques individuels. En évitant ainsi tout contact avec des animaux dont le statut sanitaire est inconnu durant leur transfert.

Les animaux séronégatifs seront admis et introduits, après la visite du vétérinaire sanitaire qui établit l'absence de brucellose.

Pour les animaux importés il est possible d'exiger un certificat de provenance de zone indemne.

- Lutter contre les pratiques des éleveurs qui tendent à favoriser l'extension de la maladie : la ponction des hygromas, la traite manuelle ...etc. Et encourager l'application rigoureuse des règles d'hygiène.

- Proscrire l'utilisation des produits ou du matériel en provenance de troupeaux infectés ou dont le statut immunitaire est inconnu.

-Eviter toutes contaminations de voisinage (pas de contact avec les animaux d'autres troupeaux dont le statut immunitaire est inconnu ou bien connu brucellique, pâturages et points d'eau exclusifs, matériel exclusif, pas d'errance des chiens, pas de contact avec d'autres espèces sensibles).

-Respecter de l'hygiène de la reproduction : contrôle de la monte publique, de l'insémination artificielle.

- Désinfection périodique des locaux.

-Strictement isoler les parturientes du reste du troupeau, pendant la période de la mise-bas, et procéder à une destruction systématique des placentas (Hasna,2013 ; Rahal et *al*, 2009 ; Akayezu, 1984).

IX.1.2 Mesures offensives

Ce sont des mesures d'assainissement qui sont uniquement applicables dans les effectifs infectés. Ils visent l'éradication de la maladie. Pour cela, il faut :

- Tout d'abord détecter les malades et les infectés latents au sein des exploitations par dépistage lors de la surveillance, lors d'un contrôle d'introduction ou à l'occasion d'un avortement.
- Les exploitations infectées, identifiées, doivent être placées sous haute surveillance des services vétérinaires.
- L'exploitation doit être séquestrée et tout mouvement d'animaux est interdit.
- Les animaux identifiés comme infectés doivent être marqués (1 ou 2 perforations à l'oreille gauche), isolés et abattus dans un délai d'un mois. La mesure la plus urgente est l'élimination des femelles ayant connu un avortement brucellique et qui constituent une source d'excrétion importante de brucelles.
- Afin de détruire les germes une désinfection de l'exploitation et un vide sanitaire des pâtures contaminées (au moins deux mois) doivent être respectés.

- Après la désinfection des locaux, les animaux restants subissent des dépistages de contrôle jusqu'à l'obtention d'une nouvelle qualification.
- Une réinfection est toujours possible des cheptels par l'intermédiaire des femelles issues de mères infectées. Donc, il est indispensable d'éliminer ces jeunes femelles et les destiner à la boucherie.
- Un contrôle des espèces réceptives (petits ruminant, chiens ...) est indispensable vu leur rôle non négligeable dans l'épidémiologie de la brucellose par leur maintien de l'infection brucellique. Ces animaux, doivent être éliminés s'ils sont reconnus brucelliques. Or, le réservoir sauvage semble être inaccessible et incontrôlable.
- Encourager la pratique contrôlée de l'insémination artificielle.

Limitier la transmission de l'infection à partir d'animaux infectés tout particulièrement en période de mise-bas ou lorsqu'ils présentent les signes prémonitoires d'un avortement, un isolement strict de ces animaux dans un local facile à désinfecter et la mise en place des mesures de désinfection adaptées (destruction des placentas et autres matières virulentes, désinfection des locaux et matériels souillés, traitement des fumiers...) sont nécessaires (Hasna,2013 ; Corbel , 2006 ; Akayezu , 1984).

IX.2 Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale est basée sur la vaccination. Elle est indiquée en milieu très infecté pour limiter les pertes liées aux avortements et pour réduire la prévalence et/ou limiter l'extension de l'infection. En revanche, elle est contre-indiquée en milieu indemne en raison des interférences possibles avec la prophylaxie sanitaire fondée sur le dépistage.

Il est difficile de donner une évaluation précise de ces pertes ; cependant, toutes les études menées s'accordent à conclure que la prophylaxie de la brucellose bovine par la vaccination est économiquement avantageuse, et que les bénéfices d'un programme de vaccination sont cumulatifs. L'exemple le plus concret est celui du programme de prophylaxie basé sur la seule vaccination des génisses au moyen du vaccin B19, en Turquie, qui a dégagé un ratio de 6,77 (coût-bénéfice) sur une période de vingt ans (Benkirane,2001).

IX.2.1 La Vaccination

Du fait de l'importance reconnue de la prophylaxie médicale par vaccination dans la maîtrise et le contrôle de la brucellose bovine, de nombreuses études visent à développer des vaccins idéals possédant certaines caractéristiques à savoir :

- Induction rapide d'une immunité d'une longue durée.
- Avoir le minimum, voire absence totale d'interférence avec le diagnostic sérologique.
- Production et conservation aisées.
- Absence, voire minimum d'effet indésirable chez l'animal et innocuité totale pour l'homme (Claude, 2004).

Les vaccins utilisés pour lutter contre la brucellose sont de deux types : les vaccins atténués et les vaccins inactivés. Les vaccins inactivés sont constitués de *B. abortus*, soit en phase lisse (vaccin H38), soit en phase rugueuse (vaccin 45-20). Ces vaccins sont aujourd'hui abandonnés.

Les vaccins atténués qui sont utilisés actuellement sont le RB51 et B19. Ces vaccins ont l'avantage d'être mieux conserver qu'un vaccin vivant (Fensterbank ,1986).

Vaccins inactivés

❖ Le vaccin 45/20

Les vaccins tués peuvent être employés chez tous les animaux mais sont de préférence réservés aux adultes. Le vaccin 45/20 à l'avantage de ne pas être agglutinogène, donc de ne pas interférer dans les réactions de dépistage sérologique, mais pose des problèmes de contrôle et d'efficacité, variable selon le mode de préparation. Toutefois, son efficacité est moins bien établie que celle du vaccin B19 et que celle (Roux, 1979). Ce vaccin n'induit pas de réponses sérologique aux tests classique d'agglutination et rose Bengale. Cependant, L'utilisation de la souche 45/20 vivante à monter une instabilité et sa tendance à se transformer à une forme lisse virulente a l'inverse lors l'utilisation de la souche tuée, additionnée d'un adjuvat destiné pour la vaccination des adultes a provoqué malheureusement la formation d'un granulomes inflammatoires important (Claude, 2004).

❖ Le vaccin H38

Le vaccin H38 fabriqué à partir d'une souche de *Brucella melitensis* en phase "S", inactivée. Possède une activité remarquable. C'est un vaccin très efficace mais présente l'inconvénient majeur d'être agglutinogène, posant des problèmes lors le dépistage sérologique (Fensterbank, 1986). Cependant, les réactions de fixation du complément se négatives rapidement chez les animaux vaccinés, et il ne fait pas apparaître un état d'hypersensibilité. Par conséquent, l'intradermoréaction permet toujours de distinguer un bovin vacciné par le H38 d'un bovin infecté (Akayezu, 1984).

Vaccins atténués

❖ Le vaccin RB 51

Le RB 51 est un mutant stable de *B. abortus* rugueux et résistant à la rifampicine. Son intérêt réside dans le fait que ce mutant n'exprime pas une grande partie de la chaîne O du LPS, ce qui constitue un avantage pour la détection sérologique ultérieure des animaux infectés. Il est utilisé aux Etats-Unis depuis 1996 et en Amérique latine depuis 2000. Bien que des études de terrain aient montré son utilité, son efficacité reste controversée. De plus, en conditions contrôlées, il est moins efficace que le vaccin B19 suite à une inoculation d'épreuve sévère (Claude, 2004).

❖ Le vaccin B19

Le vaccin B19 a été obtenu à partir d'une souche atténuée de *B. abortus* (biovar 1) B19 (Buck 19) en phase smooth isolée en 1923 (Buck) à partir du lait d'une vache. Cette souche présente certains marqueurs permettant de la différencier d'une souche sauvage. Possédant une virulence résiduelle, elle peut occasionner des avortements chez des bovins adultes. Elle entraîne en outre une réponse sérologique durable chez l'adulte. Elle est en revanche inoffensive chez l'animal impubère et, pour autant que la vaccination ne soit pas réalisée après 6 mois et ne soit pas suivie de rappels, entraîne une réponse sérologique habituellement faible, les anticorps n'étant généralement plus décelables au bout de 6 mois à 1 an (1 à 3% des animaux peuvent être encore positifs à l'EAT à 30 mois). La réponse cellulaire (test à la brucelline) reste néanmoins décelable à l'âge adulte. Cette souche peut être administrée par voie SC ou par instillation oculaire entre 4 et 6 mois. Un contrôle sérologique positif à 30 mois doit être considéré comme une preuve d'infection (Ganière, 2016).

Bien que la vaccination par le B19 ne correspond pas au profil d'un vaccin idéal, vu son caractère infectieux vis-à-vis de l'homme. Ainsi, que son effet abortif sur les femelles gravides, il constitue

néanmoins le pilier de la vaccination anti brucellique des bovins et aucun autre vaccin n'a trouvé, à l'heure actuelle une utilisation aussi large que la souche B19 (Fensterbank ,1986).

La vaccination peut être une nécessité tant que le nombre de foyers reste élevé dans une région, rendant inapplicable des mesures sanitaires fondées sur l'élimination des bovins brucelliques. Dans ce contexte, la vaccination, appliquée sur les jeunes animaux, comme sur les adultes, peut présenter un double intérêt : réduire les risques d'infection des bovins exposés à la contamination et, surtout, lutter contre la brucellose maladie, en diminuant le pourcentage d'avortements dans les cheptels infectés. La protection conférée reste néanmoins relative et peut être facilement vaincue lors de contamination massive. Il est impossible, en outre, de préconiser dans ces cheptels une prophylaxie sanitaire, fondée sur le dépistage sérologique (Castel, 2001).

IX.3 Prophylaxie mixte

La conduite d'une prophylaxie correcte se heurt sans doute à beaucoup de contraintes. Celles-ci sont d'ordres économique, technique ou psychologique de la part des éleveurs. De plus, Sans le problème des recontaminations, la prophylaxie par abattage des réagissants serait très vite efficace. A l'inverse, si la vaccination était efficace à 100%, l'éradication serait acquise très rapidement par l'injection de vaccin à tous les animaux. Ce n'est malheureusement pas le cas et une campagne d'éradication de la brucellose est une course entre son élimination par abattage et sa propagation qu'on peut éventuellement freiner par la vaccination (Fensterbank, 1986).

IX.4 Stratégies de contrôle de la brucellose

Les programmes d'éradication peuvent s'appuyer dans un premier temps sur des campagnes de vaccination destinées à réduire le niveau de prévalence de la maladie, puis, dans un second temps, sur un dépistage systématique suivi de l'abattage des animaux infectés (Hunter,2006).

L'élimination des animaux malades ou suspects doit normalement suivre le dépistage, mais elle n'est possible que lorsque la situation économique le permet. Toutefois, Lorsque la prévalence a atteint un niveau très faible, et seulement à ce stade, une stratégie d'éradication par prophylaxie sanitaire stricte peut être décidée, l'éradication devrait être une règle impérative. Il est évident donc 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 en particulier ou une zone donnée soit, tout simplement, son contrôle à un niveau de prévalence « acceptable » (Benkirane, 2001).

Tableau 1 : stratégie de contrôle de la brucellose et les méthodes de surveillance en fonction de la situation épidémiologique (Benkirane, 2001).

Situation épidémiologique	Stratégie de contrôle et mesures d'accompagnement	Méthodes de surveillance	Résultats Situation épidémiologique Méthodes de surveillance d'accompagnement recherché
A. Prévalence élevée chez les animaux incidence clinique élevée chez les humains	Prophylaxie mixte 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 C
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 Enquêtes dans les groupes cibles	Atteindre D
D. Absence de la maladie	Contrôle des mouvements	Surveillance des indicateurs de risque	Maintenir cet état

PARTIE PRATIQUE

I Objectif de l'étude

La brucellose est une maladie zoonotique qui sévit jusqu'à présent en Algérie à l'état enzootique malgré les programmes de lutte qui ont été mis en application depuis 1970. En plus du programme de lutte appliqué depuis 1995 basé sur un système de dépistage abattage, une nouvelle approche prophylactique se poursuit depuis 2006, visant la vaccination des petits ruminants afin de faire face à la prévalence inquiétante de la brucellose chez ces derniers dans les régions des hauts-plateaux, compte tenu l'aspect zoonotique grave de *Brucella melitensis*. Une étude menée par Kardjadj & Ben-Mahdi (2012) afin d'évaluer l'impact de cette vaccination sur la diminution de l'incidence de la brucellose humaine a mis en évidence outre une baisse de la prévalence de la brucellose chez les petits ruminants, un effet indirect sur la baisse de l'incidence de la brucellose humaine en Algérie. Aussi la présente a eu pour objectif l'évaluation de l'effet de la vaccination chez les petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine.

Pour ce faire, une enquête sérologique a été menée chez la population bovine de la commune de ras el oued wilaya de bordj Bou Arreridj où cette nouvelle approche prophylactique est appliquée depuis 2014. L'étude a été réalisée aux échelles du troupeau, intra-troupeau et individuelle.

Une enquête a également été réalisée et un questionnaire élaboré visant la collecte d'informations nécessaires à cette évaluation et permettant la mise en évidence de certains facteurs de risques susceptible d'influencer la prévalence de la maladie.

II Zone et période d'étude

L'enquête s'est déroulée d'octobre 2016 à décembre 2016 dans la daïra de Ras el oued (wilaya de Bordj Bou Arreridj) pendant la campagne de dépistage, encadrée par les services vétérinaires locaux.

La wilaya de Bordj Bou Arreridj située dans l'Est de l'Algérie, s'étend sur une superficie de 3 922,052 km². Elle est constituée de trois zones géographiques qui se succèdent :

- D'une zone montagneuse, avec au nord, la chaîne des Bibans ;
- D'une zone de hautes plaines qui constitue la majeure partie de la wilaya ;
- D'une zone steppique, au sud-ouest, à vocation agropastorale.

La wilaya de bordj Bou Arreridj comprend 10 daïras et 34 communes et est limitrophe avec 04 wilayas : à l'est par Sétif, à l'ouest par Bouira, au nord par Bèjaia et au sud par M'sila.

La wilaya de Bordj Bou Arreridj (BBA), est connue pour sa vocation agricole et en particulier l'élevage des petits ruminants et de bovins laitiers, répertoriés comme suit dans le tableau ci dessous :

Tableau 2 : Estimation de l'effectif de ruminants dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj

	nombre estimé de têtes		
ANNEE	2014	2015	2016
BOVIN	44 330	44 108	42 595
OVIN	430 846	445 760	460 424
CAPRIN	66 254	69 200	67 985

(DSA 2016)

Isolée de par sa position géographique, éloignée des grands axes routiers, la daïra de Ras El Oued (Bordj Bou Arreridj), est l'une des rares régions du nord du pays à être demeurée complètement "indemne" de toute activité industrielle et entièrement vouée à l'agriculture et à l'élevage.



Figure 6 : Localisation géographique de la wilaya de Bordj Bou Arreridj



Figure7 : Localisation de la daïra de Ras El Oued

Dans pratiquement toutes les filières de l'agriculture et de l'élevage, la daïra de Ras El Oued occupe en effet la tête du classement à l'échelle de la wilaya, selon des statistiques de la direction des services agricoles. Des chiffres qui indiquent, par exemple, que sur les 46 millions de litres de lait cru produits annuellement dans la wilaya, 55% proviennent de la daïra de Ras El Oued qui possède un cheptel de

vaches laitières de plus 9 000 têtes. Elle fournit annuellement, 11 000 quintaux de viandes blanches et environ 200 millions d'œufs (DSA,2016).

III Matériels & Méthodes

III.1 Population étudiée et méthode d'échantillonnage

Cette enquête séro-épidémiologique a été conduite auprès de 658 exploitations agréées de bovins laitiers par les services agricoles au titre de l'année 2016 : à savoir des élevages bovins et des élevages mixte (bovins et ovins ou bien bovins, ovins et caprins). Répartis sur les communes de Ras el oued dont 79 exploitations ont été sélectionnées par tirage au sort.

Une étude transversale avec un échantillonnage aléatoire tel que décrit par Toma et *al.* (2009) a été réalisée dans la région de Ras el Oued, entre Octobre et Décembre 2016 afin d'évaluer la séroprévalence de la brucellose chez le bovin laitier dans la région. La taille du troupeau ($n = 80$ troupeaux) a été déterminée à un niveau de confiance de 95% en se basant sur une prévalence attendue de 26% (Aggad et Boukraa., 2006) et une précision absolue de 10%. Toutes les vaches laitières trouvées dans chaque troupeau ont été échantillonnées et prélevées.

La population étudiée était constituée, de tous les bovins de l'exploitation. Les critères retenus pour participer à l'étude ont été limités au bovin femelle de plus de deux ans. Du fait qu'elles soient répertoriées sur les listes des animaux agréés étant donné qu'elles produisent du lait et donc concernées par le programme de soutien agricole qui exige le passage par le programme de prophylaxie contre la brucellose.

Afin d'éviter d'introduire un biais au niveau du sexe. Les mâles ont été exclus de notre étude puisqu'ils ne représentent que moins de 1% de l'élevage bovin laitier en raison de la pratique courante de l'insémination artificielle.

Les 79 exploitations échantillonnées présentent en moyenne 6 bovins par exploitation avec un minimum de 1 et un maximum de 14 sujets.

III.2 Prélèvement sanguin et préparation des sérums

Le matériel de prélèvement sanguin était constitué par des tubes vacutainers sous vide secs et des aiguilles stériles, des porte-tubes, des portes aiguilles et des gants. Une glacière et de la glace ont été utilisées pour la conservation des prélèvements lors de leur acheminement au laboratoire.

La contention des animaux est faite par les éleveurs, le plus souvent à l'aide d'une pince mouchette. Le sang a été prélevé au niveau de la veine jugulaire dans des tubes préalablement identifiés et puis conservés à +4°C.

Chaque prélèvement a été précisément identifié et un code composé du nom de l'éleveur, du code de la daïra et de la commune enfin du numéro d'agrément et de l'animal prélevé a été appliqué.

Une fois les prélèvements achevés ils ont été aussitôt conservés au réfrigérateur pour ensuite les acheminer vers le laboratoire d'analyse afin qu'ils subissent une centrifugation à 2700 tours /minute pendant 5 minutes.

Une fois le sérum obtenu il est déposé dans les tubes Eppendorf préalablement étiquetés et systématiquement placés au congélateur.



Figure8 : préparation des sérums après une centrifugation

III.3 Récolte des données

Un questionnaire a été élaboré, afin de collecter des données et des informations générales sur l'exploitation à savoir : le type d'élevage, le nombre de têtes, l'âge, ainsi que l'identification de quelques facteurs de risque au sein du cheptel, la récolte d'informations concernant la situation sanitaire générale, la vaccination contre la brucellose des petits ruminants et quelques symptômes connus de la brucellose bovine comme les antécédents d'avortement et les rétention placentaires (Cf. Annexe).

Les informations obtenues ont été systématiquement répertoriées dans le questionnaire durant la réalisation des prélèvements. D'autres informations ont été recueillies auprès de la subdivision de la direction des services agricoles de Ras el Oued.

Une étude rétrospective a été réalisée par nous même au niveau de la direction des services agricoles de la wilaya de bordj Bou Arreridj. Les données ont été collectées à partir du registre des maladies à déclaration obligatoire. Ce registre comporte un volet pour la brucellose animale et dès l'arrivés des tubes de prélèvements sanguins réalisés sur les bovins à partir des subdivisions agricoles de la wilaya accompagnés d'une fiche de demande d'analyse pour brucellose, toute les exploitations dépistées ainsi que leurs bovins et la région de provenance sont systématiquement répertoriés dans le registre. À l'arrivés de la remise des résultats d'analyses, chaque cas séropositif est mentionné sur le registre.

NB : *le registre des maladies à déclaration obligatoire ne renferme que des données de la période s'étendant de l'année 2013 jusqu'à l'année 2016.*

III.4 Analyse statistique

Pour l'analyse des facteurs de risque, une première analyse exploratoire des données (univariable) a été menée pour le choix des variables avec un $p \leq 0,05$ à l'aide du test Chi-deux ou Fisher exact. Les variables ayant passé ce filtre ont été utilisées pour le test de Mantel Haenszel (MH) tel que décrit par Kirkwood et Sterne (2003) pour évaluer la force d'association entre le risque de séropositivité à la brucellose et les facteurs de risque. Les calculs ont été faits à l'aide du logiciel EPI-INFO 12.0.

Les corrélations entre les facteurs de risque potentiel et la séropositivité ont été calculées par le rapport des cotes de Mantel Haenszel (MH-OR). Les Mantel Haenszel odds ratio (MH-OR) sont indiqués avec des intervalles de confiance (IC) de 95 %. Une variable est un facteur de risque lorsque le MH-OR est supérieur à 1 et lorsque la valeur de P est inférieure à 0,05.

L'Intervalle de Confiance (IC) à 95% = $P \pm Pa$ où P est la prévalence obtenue et Pa est la précision absolue, a été déterminé selon l'échantillonnage à deux étages, tenant compte de la variabilité intra-troupeaux susceptible d'exister, en utilisant la formule suivante :

$Pa = 1,96 * \sqrt{\frac{P(1-P)}{n*m}}$ où p est la prévalence observée, n est la taille de troupeaux et m est le nombre moyen des animaux prélevés chez chaque troupeaux (Toma et al, 2009).

La prévalence apparente intra- troupeaux a été obtenue pour chaque « troupeau positif » en divisant le nombre d'animaux positifs sur le nombre d'animaux testés (Toma et *al*, 2009).). Les moyennes des prévalences apparentes intra- troupeaux ont été comparées à l'aide du test Student avec un degré de signification de 5%.

III.5 Analyse de laboratoire

L'analyse de laboratoire a été faite selon les recommandations de l'OIE par l'association en série de l'épreuve du Rose Bengale et de l'ELISA. L'Épreuve du Rose Bengale a été utilisée comme un test de screening et les sérums positifs ont été confirmés par l'ELISA.

Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche « Santé & Productions Animales » pour la période du début janvier 2017 où tous les sérums (281) ont été soumis au test de la coloration au Rose Bengale (Epreuve à l'antigène tamponné : EAT). Tous les résultats positifs et peu clairs ont été confirmés (test ELISA indirecte) après les avoir transférés au laboratoire vétérinaire de Laghouat pour la période mi-janvier de la même année.

Un système de classification a été mis en place sur Excel et chaque sérum a reçu un code pour qu'il soit ensuite classé en cas positif ou négatif.

III.5.1 Épreuve au Rose Bengale

Sa spécificité, sa sensibilité, et surtout sa simplicité, font de ce test un bon moyen de dépistage très utilisé dans les enquêtes épidémiologiques. (Elle reste positive très longtemps).

Nous nous sommes servis pour le test au rose Bengale de : Plaques en plastique destinées pour les tests sérologiques sur lesquelles le réactif et les échantillons sont déposés ; micropipette pour distribuer les doses de sérums avec embouts de pipettes à usage unique, baguettes fines en plastique pour faire mélanger le réactif et l'échantillon, agitateur de plaques, et le réactif (suspension d'Antigène Brucellique coloré au Rose Bengale en milieu acide tamponné à pH acide) doté d'un compte-goutte pour micro-titrage distribuant des doses de 50 µL.

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* inactivée colorée par le rose Bengale, tamponné à pH = 3.6. **FEBRILE SERODIAGNOSTICS BRUCELLA ABORTUS/ROSE BENGAL**, lot 13120, 2017, BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain).



Figure 9 : matériels utilisés lors de l'épreuve au Rose Bengale

Technique :

C'est la technique la plus simple à réaliser jusqu'à présent. Elle consiste en un dépôt d'une goutte (050 µl) de sérum à côté d'une goutte (50 µl) d'antigène sur une plaque.

Cette dernière sera ensuite soumise durant 4 minutes à un mouvement de bascule après avoir homogénéisé l'ensemble (sérum /antigène) à l'aide d'une fine baguette.

Protocole

Les échantillons de sérum et l'antigène sont ramenés à température ambiante ($22 \pm 4^{\circ}\text{C}$) ; seule la quantité nécessaire à une journée de travail est sortie du réfrigérateur. 25 à 50 µl de chaque échantillon de sérum sont déposés sur une plaque blanche et un volume égal d'antigène est déposé à côté de chaque dépôt de sérum.

-Dès que le dernier dépôt d'antigène est effectué, le sérum et antigène sont mélangés complètement (au moyen d'un bâtonnet de verre ou plastique, changé pour chaque sérum) de manière à produire une zone circulaire ou ovale de 2 cm de diamètre environ.

Le mélange est ensuite soumis durant 4 minutes à un mouvement de bascule à température ambiante après avoir homogénéisé l'ensemble (sérum. Antigène) à l'aide d'une fine baguette.

La lecture

La lecture de la réaction est effectuée au bout de 4 min. Toute agglutination visible doit être considérée comme une réaction positive. Un sérum témoin donnant une réaction légèrement positive est utilisé à chaque série d'épreuves de manière à vérifier la sensibilité des conditions d'épreuve. - L'agglutination est signe d'un sérum positif.

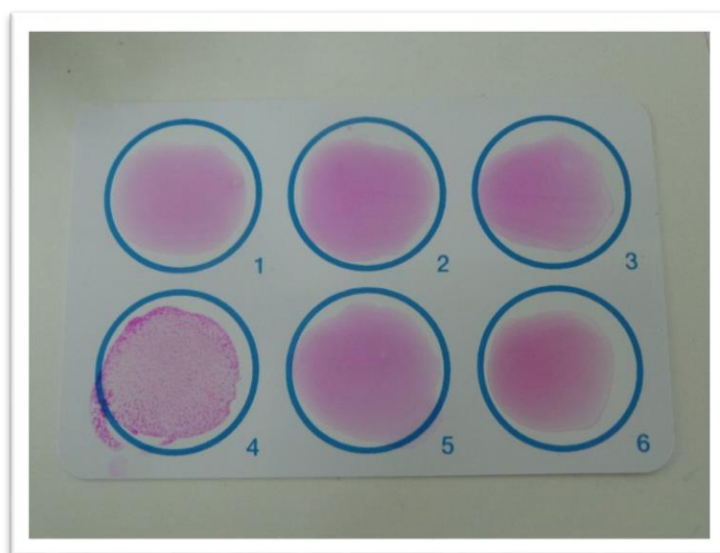


Figure10 : résultats après la coloration au Rose Bengale

Les zones 1, 2, 3, 5 et 6 montrent après la coloration au Rose Bengale un résultat négatif par absence d'agglutination. Tandis que la présence de l'agglutination dans la zone 4 démontre un résultat positif.

Après avoir obtenu les résultats en utilisant le test EAT au niveau du laboratoire de recherche « Santé & Productions Animales », les sérums positifs ont été transférés au laboratoire vétérinaire de Laghouat, afin que ces derniers soient confirmés par le test ELISA.

III.5.2 Technique d'ELISA

Le kit « ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species » utilise une technique immuno-enzymatique indirecte permettant la détection dans les sérums bovins (selon la réglementation en vigueur) des anticorps anti-lipopolysaccharides (LPS) de Brucella (IDvet, lot 749, BRUS-MS ver 1014 GB, 2017, IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – France).

Principe :

Le test est réalisé en 3 étapes distinctes :

1-Chaque échantillon est déposé dans une cupule sensibilisée par les LPS de *Brucella*. Les anticorps éventuellement présents dans un échantillon se lient à l'antigène bactérien.

Il se forme des complexes LPS-anticorps par lesquels les anticorps bovins se trouvent fixés sur les parois du puits.

2-Après lavage, un anticorps conjugué peroxydase est ajouté. Il vient se fixer sur les immunoglobulines préalablement captées, aboutissant à la formation d'un complexe : (Ag- LPS) - (Ac anti LPS) - (conjugué peroxydase).

3-Après lavage, l'excès de conjugué est éliminé par lavages. L'enzyme liée au complexe est révélée par addition d'un substrat qu'elle transforme en un produit coloré. Après arrêt de la réaction enzymatique, les densités optiques sont mesurées.

La présence ou l'absence d'anticorps est déterminée à partir de valeurs seuils obtenues en fonction du témoin positif.

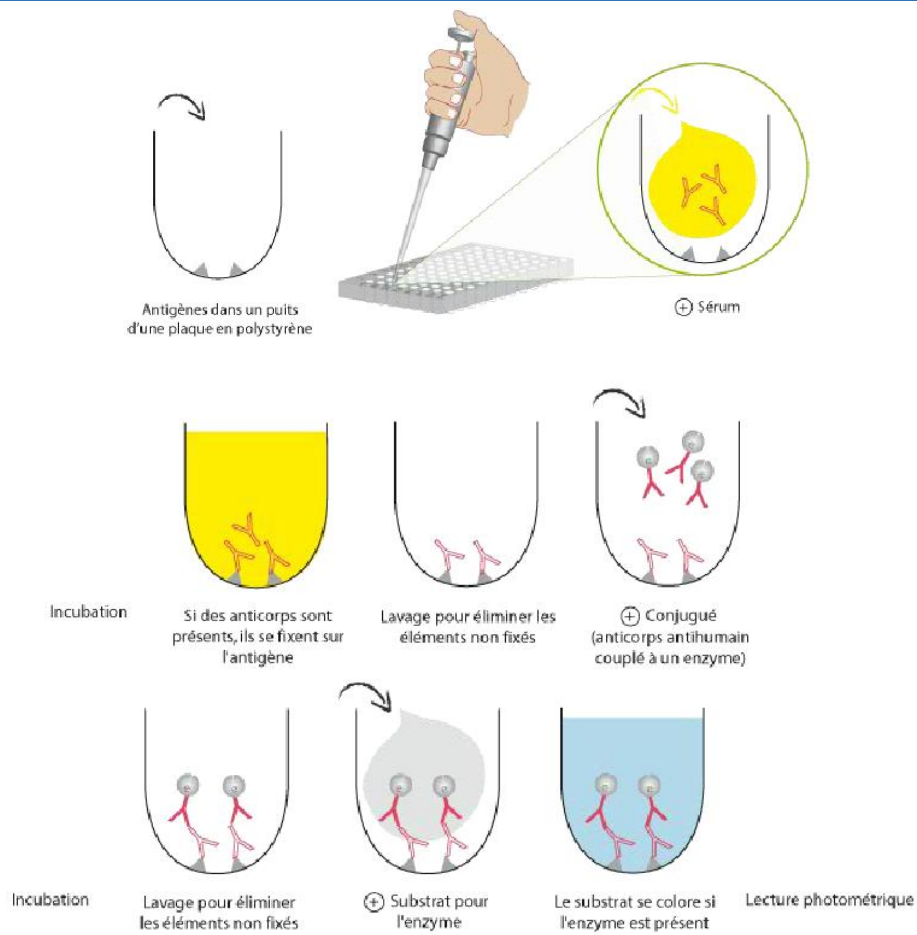


Figure11 : Principe de la méthode Immuno-enzymatique ELISA (ELISA indirect)

RESULTAT & DISCUSSION

IV Résultats

IV.1 Résultats de l'enquête

La présente étude avait pour objectif l'évaluation de l'impact de la vaccination anti-brucellique chez les petits ruminants, sur la prévalence de la brucellose bovine dans la commune de Ras El Oued Wilaya de Bordj Bou Arreridj, où l'élevage bovin et des petits ruminants est particulièrement important.

Dans un premier temps, une étude rétrospective sur 4 ans a permis de réaliser un point sur la situation épidémiologique de la brucellose bovine et d'observer l'évolution de la prévalence de la maladie après la mise en œuvre de la vaccination à partir de l'année 2014.

Dans un second temps, quelques facteurs de risques de la brucellose ont été étudiés au cours d'une enquête réalisée sur terrain. La taille de l'échantillon (79 exploitation) et les résultats obtenus nous ont néanmoins limités à l'étude d'une seule variable.

IV.2 La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine

La situation épidémiologique de la brucellose bovine à l'échelle nationale reste toujours inquiétante malgré les efforts de l'état en vue de l'éradication de cette maladie et les programmes de lutte mis en application depuis plusieurs années. En effet, un total de 705 foyers de brucellose bovine en été enregistrés durant l'année 2015 contre 707 foyers déclarés pour l'année 2014.

Le nombre de foyers a ainsi connu une augmentation remarquable en comparaison avec l'année 2012 et 2013 où respectivement 464 et 563 foyers de brucellose ont été détectés. Par ailleurs, en terme de prévalence, la brucellose bovine à l'échelle nationale a connu aussi une évolution en faveur de la maladie. De ce fait, les prévalences enregistrées sont respectivement pour les années 2013, 2014 et 2015 de 1,38%, 1,42% et de 1,96% (M.A.D.R-D.S.V, 2015 ; 2013).

IV.3 Résultats de l'étude rétrospective

Les tableaux 3 et 4 résument les résultats de l'étude rétrospective réalisée sur la base des données collectées au niveau de la direction des services agricoles de la wilaya de Bordj Bou Arreridj sur une période de 4 ans (2013-2016).

Tableau 3 : Résultats de l'étude rétrospective de la brucellose bovine dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj

BBA	Exploitations s dépistées (n)	Exploitations s positives (n)	Prévalence troupeau	Animaux dépistés (n)	Animaux positifs (n)	Prévalence individuelle
2013	314	25	7,96%	2482	81	3,26%
2014	274	25	9,12%	2451	53	2,16%
2015	303	24	7,92%	2190	50	2,28%
2016	1370	131	9,56%	6839	235	3,44%

Les valeurs obtenues montrent que la prévalence de la brucellose enregistrée dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj sur une période de 4 ans (2013-2016) a fluctué avec des valeurs de 7,96% en 2013 et 7,92% en 2015 et de 9,12% en 2014 et de 9,56% en 2016.

Les résultats de la prévalence individuelle expriment des fluctuations similaires avec des valeurs de 3,44% et de 3,26% pour les années 2016 et 2014 respectivement et de 2,28% pour les années 2013 et 2015 respectivement.

Tableau 4 : Résultats de l'étude rétrospective de la brucellose bovine dans la région de Ras El Oued (wilaya de bordj Bou Arreridj)

REO	Exploitations s dépistées (n)	Exploitations s positives (n)	Prévalence troupeau	Animaux dépistés (n)	Animaux positifs (n)	Prévalence individuelle
2013	148	17	11,49%	952	34	3,57%
2014	94	9	9,57%	605	16	2,64%
2015	52	6	11,54%	383	17	4,44%
2016	723	56	7,75%	3051	102	3,34%

Les résultats obtenus rapportent une variation dans les valeurs de prévalence de la brucellose bovine dans la région de Ras El Oued d'une année sur l'autre entre 2013 et 2016. En effet, des prévalences assez élevées à l'échelle troupeau sont observées pour les années 2013 [11,49%] et 2015 [11,54%]. Cette dernière année, enregistre également la prévalence individuelle la plus élevée avec une valeur de 4,44% signant l'importance de cette maladie dans la région au cours de l'année 2015. Ces chiffres tombent à leurs valeurs les plus basses en 2016. C'est ainsi que 56 exploitations ont été révélées positives parmi 723 exploitations dépistées soit une prévalence de 7,75%, et sur un effectif de 3051 bovins dépistés, 102 sujets se révélés positifs dans la daïra de Ras El Oued soit une prévalence individuelle de 3,34%.

IV.4 Bilan de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants

Les résultats de l'exploitation des données transmises par la DSA, relatives aux bilans de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants (ovins et caprins)) dans wilaya de Bordj Bou Arreridj et la daïra de Ras El Oued , sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Bilan de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants (2014/2015)

2014	Espèce	Effectif total		Exploitations vaccinées		Effectif vacciné		Effectif vacciné %	
		Ovins	Caprins	Ovins	Caprins	Ovins	Caprins	Ovins	Caprins
2015	REO	34839	3271	285	111	14981	1047	43,00	32,01
	BBA	43084 6	66254	2803	1232	132359	17091	30,72	25,80
2015	REO	36039	3456	519	179	24867	1832	69,00	53,01
	BBA	44576 0	69200	4807	2168	275142	29061	61,72	42,00

La nouvelle approche prophylaxie basée sur la vaccination des petits ruminants a débuté dans le wilaya de Bordj Bou Arreridj et la daïra de Ras El Oued à partir de l'année 2014.

La campagne de vaccination anti-brucellique pour l'année 2014 a concerné 285 et 111 exploitations comprenant respectivement 14981 têtes ovines et 1047 têtes caprines, dans la commune de Ras El

Oued. En 2015, le nombre d'exploitations vaccinées a sensiblement augmenté avec 519 exploitations ovines et 179 exploitations caprines soit un effectif vacciné total de 24867 ovins et de 1832 caprins. Au cours de cette année, une couverture vaccinale de 43% de l'effectif ovin total estimé à 36039 têtes et de 32,01% de l'effectif caprin total estimé à 3271 têtes, a ainsi été atteinte. Une nette augmentation de la couverture vaccinale a été enregistrée au cours de l'année 2015 et a concerné 69,00% de l'effectif ovin et 53,01% de l'effectif caprin.

Pour la wilaya de Bordj Bou Arreridj, 2803 exploitations ovines et 1232 exploitations possédant des caprins ont été vaccinées en 2014. Cette campagne de vaccination a permis de toucher une totalité de 132359 têtes d'ovins et 17091 têtes de caprins. Tandis que pour l'année 2015, 4807 exploitations ovines et 2168 exploitations caprines ont été vaccinées soit un effectif vacciné de 275142 ovins et de 29061 caprins. La vaccination a ainsi touché 61,72% et 42,00% des effectifs ovin et caprin respectivement.

IV.5 Résultat de l'étude expérimentale

Les résultats des tests sérologiques et les informations recueillies auprès des exploitations au cours de l'enquête effectués, ont été rapportés dans le tableau 6.

Les exploitations mixtes sont constituées de bovins non vaccinés contre la brucellose, la vaccination de ces derniers étant strictement interdite en Algérie. Toutes les exploitations intégrées dans notre étude ont été vaccinées depuis 2014.

Sur une totalité de 79 exploitations étudiées, uniquement 15 exploitations se sont révélées séropositives. Parmi ces 79 exploitations, seulement 2 exploitations visitées pour la première fois présentaient une séropositivité. Sur les 281 bovins prélevés, 20 étaient séropositives.

Parmi les 33 exploitations mixtes comprenant bovins et petits ruminants, 4 ont été révélées séropositives avec 5 animaux séropositifs sur une totalité de 6 animaux. En revanche, les 29 autres exploitations mixtes étaient séronégatives.

Sur les 46 exploitations pratiquant un élevage strictement bovin et non vaccinés conformément à la réglementation en vigueur, interdisant strictement la vaccination des bovins contre la brucellose, 11 exploitations étaient séropositives avec 15 bovins séropositifs sur 54. Cependant, 35 exploitations se révèlent séronégatives soit un nombre de 158 bovins sur 212.

L'étude de l'état de parturition révèle 2 vaches primipares séropositives sur un total de 23 vaches primipares et 18 vaches séropositives sur 258 vaches multipares soit 14.33 %.

L'étude de l'effet de l'introduction, montre que sur un total de 97 exploitations, 51 exploitations ne pratiquent pas l'introduction de nouveaux animaux en s'appuyant seulement sur leurs propres produits. Sur les 28 exploitations pratiquant l'introduction, 13 exploitations n'appliquent aucun contrôle ou dépistage avant l'introduction de nouveaux sujets.

Les résultats montrent que sur les 51 exploitations qui ne pratiquent pas l'introduction de nouveaux animaux, 10 exploitations se sont révélées séropositives (19.60 %), avec 13 sujets positifs et 8 sujets présentant une séronégativité. Alors que parmi les 28 exploitations pratiquant l'introduction 5 exploitations sont séropositives (17.85 %) avec 7 vaches positives et 32 vaches séronégatives.

Sur les 15 exploitations appliquant un contrôle avant l'introduction des nouveaux animaux, 4 exploitations étaient séropositives soit 4 vaches séropositives et 28 séronégatives.

Concernant le facteur âge, deux classes ont été étudiées : vaches âgées de 2 à 5 ans et celles âgées de plus de 5 ans. Les vaches moins de 2 ans ont été exclues de la présente étude.

Dans un total de 281 vaches prélevées, 150 vaches appartiennent à la classe d'âge [2, 5 ans] et 131 vaches avait plus de 5 ans. Dans la classe d'âge [2, 5 ans], 11 vaches se sont révélées séropositives et 9 vaches âgées de plus 5 ans étaient séropositifs.

NB : L'analyse statistique a été faite par le test chi-deux (χ^2), permettant une comparaison des séroprévalences apportées par l'étude, afin de pouvoir se prononcer sur le lien de chaque facteur et la séropositivité de la brucellose, les moyennes ont été comparées par le test t de Student.

Tableau 6 : Résultats séro-épidémiologiques de la brucellose bovine dans la commune de Ras el oued (Wilaya de Bordj Bou Arreridj)

		Exploitation s dépistées	Animau x dépistés	Elevages mixtes*	Elevages bovins **	Vaches primipare s	Vaches multipare s	Pas d'introductio n	Introduction	avec politique d'introduction	sans politique d'introduction	Exploitation visitées la première fois	Age [2,5ans]	Age >5 ans	
L'échelle exploitation	Exploitations positif		15	-	4	11	-	-	10	5	4	1	2	-	-
	Exploitations négatif		64	-	29	35	-	-	41	23	11	12	18	-	-
	total		79	-	33	46	-	-	51	28	15	13	20	-	-
L'échelle Individuel	Exploitations négatives		-	221	63	158	19	202	129	92	35	57	49	122	99
	Exploitations positives	négatif	-	40	1	39	2	38	8	32	28	4	0	17	23
		positif	-	20	5	15	2	18	13	7	4	3	2	11	9
	total			-	281	69	212	23	258	150	131	67	64	51	150

NB : La vaccination anti-brucellique chez les bovins est strictement interdite en Algérie.

** Elevage mixte : renferme des bovins non vaccinés contre la brucellose et des petits ruminants vaccinés contre la maladie.*

***Elevage bovin : renferme uniquement des bovins non vaccinés contre la brucellose.*

IV.5.1 La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine dans la zone d'étude (Ras El Oued)

IV.5.1.1 Prévalence troupeau

L'investigation qui a été menée dans la région de Ras el Oued a porté sur 79 exploitations parmi lesquelles, 15 ont été révélées séropositives donc une séroprévalence globale à l'échelle du troupeau de $18,99 \% \pm 17,42$. Ce qui souligne l'importance de la situation épidémiologique de brucellose la dans la région de Ras El Oued.

Sur les 79 exploitations, 20 ont été visitées et prélevées la première fois révélant 2 foyers de brucellose soit une prévalence de $(10\% \pm 8,41)$.

IV.5.1.2 Prévalence intra-troupeau

La moyenne rapportée de prévalence intra-troupeau au sein des 15 exploitations qui ont été révélées séropositives est de $30\% \pm 17,21$. Cette valeur relativement élevée, signe l'importance de la maladie dans la région.

IV.5.1.3 Prévalence individuelle

Sur les 281 vaches testées, 20 ont été révélées séropositives, soit une prévalence individuelle globale de $7,11\% \pm 3,04$. Ce qui indique l'importance de cette maladie dans la région et le danger potentielle de contagion par ces animaux séropositifs.

IV.5.2 Etude des facteurs de risque liés à la séropositivité à la brucellose

IV.5.2.1 Etat de parturition

L'état de parturition constitue un facteur de risque dans l'épidémiologie de la brucellose bovine. Le tableau 7 montre l'effet du de l'état de parturition sur la prévalence de la brucellose.

Tableau 7 : Effet du de l'état de parturition sur la prévalence de la brucellose bovine

Paramètre	Nombre de bovins analysés	Nombre de bovins séropositifs	Prévalence	<i>P</i>
Bovins primipares	23	2	8,69 ±6,13	0, 31
Bovins multipares	258	18	6,97 ± 3,17	

La population étudiée comprenait 23 primipares et 258 multipares. L'étude sérologique a permis de déterminer une prévalence individuelle des primipares de 8,69 % ± 6,13 et une prévalence individuelle des multipares de 6,97% ± 3,17. Les différences observées n'étaient pas significatives (test χ^2 , $p = 0,23$).

IV.5.2.2 L'âge

Neuf vaches sur les 131 vaches âgées de plus de 5 ans se sont révélées séropositives, soit une prévalence de 6,87% ±3,12, tout comme les 11 sujets sur les 150 vaches âgées de 2 à 5 ans, soit une prévalence de 7,33% ±4,13. Néanmoins, ces différences restent statistiquement non significatives (test χ^2 , $p = 0,21$).

Tableau 8 : Effet de l'âge sur la prévalence de la brucellose bovine

Paramètre	Nombre de bovins analysés	Nombre de bovins séropositifs	Prévalence	<i>P</i>
Bovins > 5ans	131	9	6,87 %±3,12	0,21
Bovins	150	11	7,33 %±4,13	

IV.5.2.3 Effet de l'introduction

Du fait de l'importance de la pratique du contrôle à l'introduction qui constitue le pilier incontournable de la protection sanitaire du troupeau, l'influence de ce facteur de risque a été étudié à l'échelle troupeau et à l'échelle intra-troupeau.

a) À l'échelle du troupeau

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-après.

Tableau 9 : Effet de l'introduction sur la prévalence à l'échelle troupeau de la brucellose bovine.

Paramètre	Nombre de troupeaux visités	Nombre de troupeaux séropositifs	Prévalence	<i>P</i>	MH-OR
Troupeaux ne pratiquant pas l'introduction	51	10	19,60%±11 ,2	0,63	1,12 [0,08. 2,16]
Troupeaux qui pratiquent l'introduction	28	5	17,85%±9,17		

Tableau 10 : Effet du contrôle à l'introduction sur la prévalence à l'échelle troupeau.

Paramètre	Nombre d'élevages dépistés	Nombre d'élevages séropositifs	Prévalence	<i>P</i>
Elevages pratiquant l'introduction Avec contrôle	15	4	26,66% ±13 ,2	0,01
Elevages pratiquant l'introduction sans contrôle	13	1	7,69%±4,32	

Les résultats de l'analyse sérologique, montrent que 10 exploitations étaient séropositives sur les 51 qui ne pratiquent plus l'introduction, soit une séroprévalence de 19,60 % ±11 ,2. De même, 5

exploitations étaient séropositives sur les 28 exploitations qui pratiquent l'introduction soit une prévalence de 17,85 % $\pm 9,17$. Parmi elles, les 13 exploitations ne contrôlant pas les nouveaux arrivants ont présenté une prévalence de 7,69% $\pm 4,32$.

L'analyse statistique des différences observées a montré qu'elles étaient non significatives (test χ^2 , $p = 0,63$)

b) A l'échelle de l'intra-troupeau

Afin d'évaluer l'effet de la politique à l'introduction à l'échelle intra-troupeau, une prévalence intra-troupeau moyenne de 6,5% $\pm 5,32$ a été retrouvée dans les exploitations qui pratiquent le contrôle à l'introduction, contre une prévalence intra-troupeau moyenne des élevages qui ne pratiquant aucun control de 12,5% $\pm 8,7$ (Tableau 11).

Tableau 11 : Effet du contrôle à l'introduction sur la prévalence intra-troupeau de la brucellose bovine.

Paramètre	Moyenne	σ	T
Troupeaux qui pratiquent le contrôle à l'introduction	6,5%	5,32	0,02
Troupeaux qui ne pratiquent pas le contrôle à l'introduction	12,5%	8,7	

La valeur de la moyenne de la prévalence intra-troupeau des élevages qui pratiquent le contrôle à l'introduction obtenue était significativement inférieure comparée à celle de la prévalence intra-troupeaux des élevages qui ne pratiquent pas le contrôle avant toute introduction (test de Student $t = 0,02$).

IV.5.3 Impact de la vaccination anti-brucellique chez les petits ruminants sur la brucellose bovine.

Dans la présente étude, l'effet de la vaccination a été évalué dans des exploitations comprenant des bovins non vaccinés contre la brucellose, du fait de son interdiction en Algérie et dans des exploitations pratiquant un élevage mixte où les bovins côtoient des petits ruminants vaccinés contre la brucellose. L'impact de la mixité avec des espèces vaccinées et donc du type d'élevage sur la prévalence de la brucellose a donc été étudié sur trois échelles : troupeau, intra-troupeau et individuelle.

IV.5.3.1 Prévalence à l'échelle du troupeau

A l'échelle du troupeau, l'étude a concerné 79 exploitations dont 33 comprenaient un élevage mixte et 46 bovins. Les résultats obtenus ont montré que 4 exploitations sur les 33 pratiquant un élevage mixte étaient séropositives. De même, 11 sur les 46 exploitations bovines se sont révélées séropositives. Ce qui permet de déterminer la prévalence à l'échelle troupeau des exploitations mixte de $12,12\% \pm 10,87$ et à de $23,91\% \pm 9,22$ pour celles qui pratiquent l'élevage bovin uniquement (Tableau 12).

Tableau 12 : Effet du type d'élevage sur la prévalence à l'échelle du troupeau de la brucellose bovine

Paramètre	Nombre de troupeaux visités	Nombre de troupeaux séropositifs	Prévalence	P	MH-OR
Troupeaux mixtes	33	4	$12,12\% \pm 10,87$	0,011	1,73 [0,58. 2,98]
Troupeaux Bovins	46	11	$23,91\% \pm 9,22$		

L'étude statistique a permis de confirmer que les différences observées étaient significative (comparaison des moyennes du khi-deux $p=0,01$ et MHOR 1,73 [0,58. 2,98]).

IV.5.3.2 Prévalence à l'échelle intra-troupeau

La présente étude qui a porté sur 79 exploitations a permis de révéler 15 exploitations séropositives avec une prévalence de $18,99\% \pm 17,42$. Parmi les 15 exploitations qui étaient séropositives on note 11 exploitations pratiquant un élevage bovin et 4 exploitations pratiquant un élevage mixte (Tableau 13).

Tableau 13 : Effet du type d'élevage sur la prévalence à l'échelle intra-troupeau de la brucellose bovine

Paramètre	Moyenne	σ	T
Elevages mixtes	20,83%	8,3	0,02
Elevages bovins	38,46%	12,51	

Une prévalence intra-troupeau moyenne de $20,83\% \pm 8,3$ a été retrouvée dans les exploitations séropositives de type mixte, contre une prévalence intra-troupeau des élevages bovins de $38,46\% \pm 12,51$.

La valeur de la moyenne de la prévalence intra-troupeau des élevages mixtes obtenue était significativement inférieure comparée à celle de la prévalence intra-troupeaux des élevages bovins (test de Student $t=0,02$), ce qui souligne l'influence du type d'élevage sur la prévalence de la brucellose bovine au sein des exploitations et celui de la présence de sujets vaccinés.

IV.5.3.3 L'échelle individuelle

Les résultats de l'étude de l'effet du type d'élevage sur la prévalence individuelle de la brucellose sont repris dans le tableau 14.

Un effectif de 281 vaches a ainsi été prélevé (69 appartiennent aux élevages mixtes et 221 vaches proviennent des élevages bovins). Les résultats de l'analyse sérologique révèlent des prévalences individuelles de $7,24\% \pm 5,1$ et de $7,07\% \pm 3,5$ pour les élevages mixtes et les élevages bovins, respectivement.

Tableau 14 : Effet du type d'élevage sur la prévalence individuelle de la brucellose bovine

Paramètre	Nombre de bovins analysés	Nombre de bovins séropositifs	Prévalence	<i>P</i>
Elevages mixtes	69	5	7,24%±5,14	0,63
Elevages bovins	221	15	7,07 %± 3, 5	

L'analyse statistique par le test du khi-deux (χ^2 , $p= 0,63$) ne démontre aucune influence du type d'élevages sur la prévalence individuelle.

Discussion

V Discussion

La brucellose humaine est reconnue par la FAO, l'OMS et l'OIE comme étant la zoonose la plus répandue à travers le monde. En Algérie, la brucellose humaine constitue un vrai problème de santé publique avec une moyenne de plus 6000 cas/an (OMS, 2014). Une incidence de 15,8 cas / 100.000 a été signalée soit 6132 cas de brucellose humaine (M.S.P, 2015).

La brucellose bovine tire son importance non seulement de son impact pour la santé publique mais aussi de son impact économique considérable dans le domaine des industries animales où elle constitue une contrainte majeure à la production de protéines d'origine animale. Ces pertes sont aussi imputées aux avortements, à la stérilité et à la chute de la production laitière, auxquels s'ajoutent les coûts engendrés par l'entrave aux échanges commerciaux et les dépenses réalisées en vue de l'éradication de la maladie.

En Algérie, malgré que les programmes de lutte contre la brucellose soient entrés en vigueur depuis plusieurs années, et l'adoption en 2006 d'une nouvelle stratégie prophylactique visant la vaccination des petits ruminants, la brucellose bovine reste toujours une source de préoccupation.

La présente étude a eu pour principal objectif l'étude de l'impact de la vaccination anti-brucellose des petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine dans la commune de Ras El Oued, Wilaya de Bordj Bou Arreridj qui se caractérise par l'importance de ses élevages bovins, ovins et caprins. Une étude rétrospective sur 4 années ainsi qu'une mise point sur la situation épidémiologique de la brucellose bovine dans les zones étudiées ont constitué un préalable nécessaire à l'exploitation des résultats obtenus.

V.1 La situation épidémiologique globale de la brucellose bovine

La prévalence à l'échelle du troupeau enregistrée dans la présente étude est nettement supérieure à celles rapportées par les données de l'étude rétrospective réalisée par la direction des services vétérinaires pour la daïra de Ras el Oued (7,75%) et la wilaya de bordj Bou Arreridj (9,56%), au cours de l'année 2016. Enfin, une prévalence individuelle de 7,11% a été enregistrée lors de la présente étude contre respectivement 3,44% et 3,34% rapportées par l'étude rétrospective pour la wilaya de bordj Bou Arreridj et la daïra de Ras el Oued au cours de la même année.

Ces valeurs plus faibles rapportées par l'étude rétrospective peuvent être expliquées par les différents biais liés à l'irrégularité et /ou l'insuffisance des dépistages. Le manque d'effectif vétérinaire imposant souvent des intervalles importants. Le dépistage se réalise généralement tous les 6 mois avec élimination des animaux séropositifs. Dans ce cas, un contrôle sanitaire avec un nouveau dépistage devrait se faire après 2 mois. Ce qui réduirait d'autant la prévalence annuelle.

La wilaya de bordj Bou Arreridj présente une prévalence de 9,56% significativement supérieure à celle de Ras El Oued (7,75%), ce qui laisserait penser que le programme de prophylaxie serait mieux suivi et appliqué. De plus, la majeure partie des élevages bovins est de type laitier et sa production est en grande partie acheminée aux industries laitières qui exigent un statut indemne. Cependant, il n'en est pas de même pour la prévalence individuelle qui est de 3,44% et de 3,34% pour la wilaya de bordj Bou Arreridj et la commune de Ras el oued. Ce qui signifie que malgré les efforts fournis par les autorités sanitaires en vue de l'éradication de la brucellose et l'assainissement de certaines exploitations le danger de maladie brucellose demeure dans les autres.

V.2 Facteurs de risque de séropositivité de la brucellose

V.2.1 L'état de parturition

Une femelle atteinte de brucellose n'avorte en général qu'une seule fois (dans 80% des cas), mais elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions génitales au cours des vêlages suivants (multipare). De plus, 2,5 à 9 % des jeunes femelles peuvent être infectées *in utero* sans qu'elles ne présentent de symptômes que lors d'une gestation ultérieure, ce qui signe l'importance du danger contagieux potentiel de ces animaux, ainsi que le risque de la transmission verticale de la maladie.

La présente étude montre que l'état de parturition ne semble pas influencer significativement sur la prévalence individuelle de la brucellose aussi bien chez les primipares (8,69 %) que chez les multipares (6,97 %) ($p= 0,31$). Néanmoins, la gestation reste un facteur important de sensibilité à la contamination. Hors gestation, l'infection possible est transitoire et guérit spontanément dans plus de 50 % des cas (Akakpoet Bornarel, 1987).

V.2.2 L'âge

L'âge constitue un facteur de sensibilité et de réceptivité vis-à-vis la brucellose et par conséquent un facteur de risque pour la maladie. Les résultats obtenus lors de la présente étude, montrent que l'âge ne représente pas un facteur de variabilité de la prévalence ($p=0,21$). En revanche, certains auteurs rapportent une corrélation de la prévalence individuelle de la brucellose avec l'âge des animaux. Elle serait significativement plus élevée chez les animaux âgés que chez les jeunes animaux jeunes (Boukary et al, 2014). Cette prévalence plus élevée chez les animaux âgés serait dû à la plus grande probabilité d'exposition à l'infection au cours du temps. Néanmoins, les travaux d'Amadou (2004) concluent à l'absence d'influence de l'âge sur l'infection brucellique. Plus récemment une étude menée par Amona (2016) a montré un pourcentage élevé de cas positifs chez les jeunes. Ces observations ont été faites dans des troupeaux de femelles où les taux d'infection obtenus chez les génisses et les vaches étaient respectivement de 13,33% et 8,57% par le test ELISA, 16,66% et 2,85% par le Rose Bengale.

V.2.3 Effet de l'introduction

Le principal risque de contamination du troupeau par la brucellose, est représenté évidemment par l'introduction d'animaux contaminés. Un contrôle à l'introduction est impérativement nécessaire afin de s'assurer que les animaux achetés et nouvellement introduits ou bien prêtés (taureaux reproducteurs) ne présentent pas de risque brucellique pour les autres animaux de l'exploitation.

La prévalence enregistrée dans les exploitations qui pratiquent le contrôle à l'introduction n'est pas explicite alors que les éleveurs achètent leurs bovins auprès d'exploitations dont le statut immunitaire est connu après avoir fourni un certificat stipulant un statut indemne de brucellose. La présence de faux positifs, facteur limitant pour le diagnostic de la brucellose ainsi que pour son éradication pourrait constituer un premier élément d'explication (Aghasthaya et al, 2007).

Il est également à relever que quelques éleveurs ont recours aux laboratoires privés afin d'effectuer le dépistage. Malheureusement cette pratique est illicite et contribue à l'extension de la contamination aux animaux des autres exploitations après la vente de ces derniers en tant qu'animaux exempts de maladie. Abstraction faite des faux négatifs qui peuvent en résulter, la fraude elle-même constitue une véritable entrave aux programmes de prophylaxie en faussant la validité des contrôles à l'introduction.

Les vétérinaires praticiens jouent aussi un rôle non négligeable dans le cadre d'un contrôle à l'introduction des nouveaux bovins dans les exploitations pour la recherche d'éventuelles affections dont la brucellose. Mais vu son caractère discret, la maladie ne peut être diagnostiquée que par des examens sérologiques réalisés au niveau des laboratoires vétérinaires centraux puisque le seul signe relativement évocateur est bien l'avortement surtout s'il prend une allure enoosootique. Néanmoins l'effet favorable du contrôle à l'introduction a pu être apprécié sur l'évolution de la prévalence intra-troupeaux en raison de la contagiosité connue de la brucellose. En effet, une moyenne de la prévalence intra-troupeau des élevages pratiquant le contrôle à l'introduction (6,5%) est inférieure à celle des élevages qui ne pratiquent pas le contrôle à l'introduction (12,5%) a été rapportée par cette étude ($t=0,02$). Ceci peut être expliqué par l'absence de contrôle. De plus, les bovins majoritairement des femelles introduites entrent dans le cadre de la reproduction et plupart d'entre elles sont achetées dans le 3^e tiers de gestation. Or, que si elles sont séropositives à ce moment-là, elles constituent une véritable source de contagion par l'excrétion accrue de brucella, contribuant à l'extension de la maladie aux autres animaux de l'exploitation. Néanmoins, l'effet de l'introduction sur la prévalence à l'échelle des exploitations la pratiquant ou pas n'est pas significatif $P=0,63$.

V.3 Impact de la vaccination brucellique sur la brucellose bovine

Suite à l'arrêté interministériel du 13 juin 2005 rendant obligatoire la vaccination contre la brucellose des espèces ovine et caprine, et à l'arrêté interministériel du 6 septembre 2005 fixant les modalités de rétribution des vétérinaires praticiens exerçant à titre privé, mandatés et réquisitionnés lors de la réalisation des campagnes de vaccination anti-brucellique et toute autre action prophylactique ordonnée par l'autorité vétérinaire nationale (JORA, 2005), la stratégie prophylactique par l'instauration de la vaccination anti-brucellique chez les ovins et caprins par le vaccin Rev-1 a débuté en 2006 dans 7 wilayas pilotes (Batna, Biskra, Khenchela, M'Sila, Djelfa, Laghouat et Tébessa). En 2008 et 2009, les pouvoirs publics ont étendu cette approche prophylactique à d'autres wilayas (Médéa, Oum El Bouaghi, Tiaret et Ghardaïa). En 2010, la vaccination touche 19 wilayas (DSV, 2011) et ce n'est qu'à partir de 2014 que la vaccination des petits ruminants a été entamée dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Cette campagne de vaccination de l'année 2014 avec la souche Rev-1 de *Brucella melitensis* délivré aux ovins et caprins de plus de 3 mois exception faite des femelles gestantes ou en lactation chez lesquelles la vaccination est contre-indiquée a permis une couverture de 30,72% et de 25,8% des effectifs ovins et caprins respectivement et 62% et 42% des effectifs ovins et caprins respectivement au cours de l'année 2015.

L'étude statistique a démontré que la séroprévalence enregistrée au sein des exploitations qui pratiquent un élevage mixte (12,12%) est significativement inférieure (χ^2 , $P=0,011$) à celles des exploitations constituées seulement de bovins. De plus, l'étude de facteur du risque en utilisant le MHOR a montré que la mixité des élevages aurait un effet bénéfique sur la prévalence de la brucellose. En effet, le MHOR est presque deux fois (MHOR= 1,73 [0,58. 2,98]) plus élevé chez l'élevage mixte que chez les élevages bovins. Il en est de même pour la prévalence intra-troupeaux où la moyenne de la prévalence intra-troupeau des exploitations possédant un élevage mixte (20,83%) est significativement inférieure celle de la prévalence intra-troupeaux des élevages bovins (test de Student, $t=0,02$).

Par contre, la prévalence individuelle au sein des élevages mixtes (7,24%) n'a pas montré une différence marquée ($p=0,63$) par rapport à celle des exploitations pratiquant exclusivement l'élevage bovins, en revanche, la séroprévalence enregistrée à l'échelle du troupeau des élevages mixtes est clairement inférieure (χ^2 , $P=0,011$) à celle des troupeaux bovins. Qui plus est, à l'échelle intra-troupeau une moyenne de prévalence significativement inférieure ($t=0,02$) des élevages mixtes par rapport à celle des élevages bovins est rapporté. Donc le type d'élevage n'influencerait pas la prévalence de la brucellose à l'échelle individuelle.

Les résultats obtenus en termes de prévalence à l'échelle du troupeau et intra-troupeau a démontré que le fait d'avoir un élevage mixte comprenant des bovins non vaccinés et des petits ruminants vaccinés pouvait avoir un effet sur la prévalence de la brucellose bovine. Ce n'était pas le cas à l'échelle individuelle probablement en raison du fait que la brucellose bovine peut être non seulement due à *Brucella abortus*, mais également à *B. melitensis* qui est le principal agent de la maladie ovine et caprine (OIE, 2005). En outre, dans une enquête menée dans le cadre de l'identification régulière des espèces et biovars responsables de la brucellose bovine en France, 312 souches ont été étudiées, depuis 1978, par les méthodes recommandées par le Sous-Comité de la Taxonomie des Brucella. La majorité d'entre elles (264, soit 85%) appartient effectivement à l'espèce *B. abortus*. Par contre, 15% seulement présentent les caractères de *B. melitensis*, dont (90%) proviennent du Midi de la France, dans laquelle la brucellose des petits ruminants prend un aspect enzootique (Verger *et al*, 1989). Par ailleurs, les résultats d'enquêtes réalisés en 2000/2001 pour évaluer la séroprévalence de cette maladie chez les petits ruminants, dans des zones des hauts plateaux ont montré de fortes prévalences troupeau ; de 9,58% chez les caprins, 3,63% chez les ovins et 3,83% chez les troupeaux mixtes (ovins et caprins). (DSV, 2002). Cependant, l'absence du dépistage systématique chez les petits ruminants pour la recherche de la brucellose limite les données disponibles pour la wilaya de BBA.

La prévalence individuelle pour la wilaya de bordj Bou Arreridj pour l'année 2013 était de 3,26 % contre une prévalence de 2,28% pour l'année 2015 alors qu'elle est respectivement de 3,57 % et de 4,44% dans la commune de Ras el oued pour les années 2013 et 2015. Cette tendance est comparable à celle observée dans la wilaya de Médéa où la vaccination est appliquée depuis 2006, où on note la baisse de la prévalence de 6,69% pour l'année 2005 à 3,08 % pour l'année 2015, soit une période de vaccination d'environ 10 ans (M. A.D.R, 2016).

Brucella melitensis, *B. abortus* et *B. suis*. Sont les espèces le plus souvent mis en cause dans la maladie, *brucella melitensis* étant responsable des infections les plus graves. Par conséquent, la vaccination des petits ruminants contre la brucellose devrait permettre la diminution de l'incidence chez l'homme outre l'effet bénéfique de la mixité d'élevage (petits ruminants vaccinés) observé sur la réduction de la séroprévalence à l'échelle troupeau et intra-troupeau.

La diminution de la prévalence de la brucellose à l'échelle individuelle aussi bien qu'à l'échelle du troupeau (de 11,23% à 7,12%) dans la wilaya de Médéa après environ 10 ans d'une mise en place d'une politique d'éradication de la brucellose chez petits ruminants, s'est accompagnée par une diminution significative de l'incidence de la maladie humaine (Kardjadj et Ben-Mahdi, 2012)

Au niveau de la wilaya de bordj Bou Arreridj ainsi que la commune de Ras el oued, la couverture vaccinale anti-brucellose a connu une nette augmentation durant l'année 2015 par rapport à l'année précédente.

En effet, une progression de la couverture vaccinale de 38,28% et de 25,21% pour l'effectif ovin et caprin entre l'année 2014 et 2015 a été rapportée au niveau de la wilaya de bordj Bou Arreridj. Quand à la commune de Ras El Oued, la couverture vaccinale a progressé de 35% pour l'effectif ovin et de 21% pour l'effectif caprin durant la même période.

On a observé malgré l'évolution favorable de la couverture vaccinale, une augmentation de la prévalence de la brucellose bovine dans la région de Bordj Bou Arreridj qui est passée de 7,92% en 2015 à 9,56% en 2016 à l'échelle du troupeau et de 2,28% en 2015 à 3,44% en 2016 à l'échelle individuel. Cependant, une baisse des prévalences a été enregistrés dans la région de Ras El Oued passant de 11,54% en 2015 à 7,75% en 2016 et de 4,44 % en 2015 à 3,34 % en 2016 à l'échelle du troupeau et à l'échelle individuel.

La vaccination contre la brucellose des petits ruminants permet une protection des élevages mixtes et semble exercer un effet favorable sur la réduction de la prévalence de la brucellose bovine.

Néanmoins, pour que cette répercussion soit palpable plan individuel, il faudrait que la vaccination soit appliquée de manière étendue et continue et elle le sera d'autant dans les zones à prévalence brucellique élevée (Banai, 2002).

Conclusion

Les résultats obtenus lors de cette étude, qui a porté sur l'impact de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine ont montré d'une part que les programmes de prophylaxie mis en œuvre restent encore insuffisants et/ou rencontrent des entraves considérables (absence de contrôle à l'introduction des animaux, fraudes diverses...) dans leur application et que d'autre part, la vaccination anti-brucellique des petits ruminants joue un rôle bénéfique sur la réduction de la prévalence de la brucellose bovine à l'échelle du troupeau, ainsi qu'à l'échelle intra-troupeau dans les élevages mixtes.

Recommandations

Au terme de cette modeste étude, les recommandations suivantes peuvent être émises :

- Toute stratégie d'une prophylaxie d'éradication de la brucellose doit être adaptée à l'épidémiologie de l'infection, à la prévalence effective de l'infection des troupeaux et à l'organisation de l'élevage.
- La stratégie d'éradication de la brucellose doit être régulièrement adaptée et renforcée au fur et à mesure de l'amélioration de la prévalence, de manière à accélérer ce processus d'assainissement.
- La vaccination devrait être appliquée, et généralisée dans la population bovine, aux femelles de tout âge, y compris dans les troupeaux indemnes, la vaccination permet de diminuer la fréquence des cas jusqu'au moment où il deviendrait possible, sans graves pertes économiques, de procéder à l'élimination des animaux positifs. De même, la vaccination contribue à la protection des animaux sains, surtout si l'élimination de tous les animaux malades n'est pas garantie.
- Un dépistage systématique de la population ovine et caprine doit être mise en place afin de connaître la prévalence réelle de la brucellose ovine et caprine ce qui permettrait d'évaluer régulièrement l'efficacité du programme et d'en redéfinir les contours si nécessaires.
- Le contrôle à l'introduction reste un pilier incontournable de la protection sanitaire du troupeau mais il doit être impérativement soumis à des règles sanitaires rigoureuses, respectées et établies par les autorités compétentes. Ainsi un contrôle effectif des mouvements d'animaux issus de troupeaux suspects ou infectés et entre troupeaux ayant des statuts sanitaires différents est impératif.
- Sensibiliser les propriétaires des cheptels aux risques réels de la brucellose tant sur plan de la santé publique que sur le plan économique afin de les inciter à s'impliquer d'avantage dans le programme de prophylaxie.

Références bibliographique

1. Adrian, M. W., Nicholas, D., Axel, C., et al., (2014): Schlabritz-Loutsevitch. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(1), 4120–4128.
2. Agasthya, A. S., Isloor., Prabhudas, K., (2007): Brucellosis in high risk group individuals Indian.J. Med.Microbiol., 25(1), 28-31.
3. Aggad, H., Boukraa, L., (2006): Prevalence of bovine and human brucellosis in western Algeria: Comparison of screening tests. *East Mediterranean Health Journal.*, 12(1), 119-128.
4. Akayezu V. J-M., (1984) : A propos d'une enquête séro-épizootiologique sur la brucellose bovine au Rwanda. Thèse pour l'obtention du diplôme docteur vétérinaire. Université De Dakar. Faculté de Médecine, de Pharmacie. Dakar., N°12, 161.
5. Alton, G.G., (1992) : Diagnostic sérologique de la brucellose. In diagnostic bactériologique vétérinaires : méthodes de laboratoires pour le diagnostic de certaines maladies du bétail (éd Alton, G.G., Carter, G.R., Kibor, A.C, &Pesti, L.) édition FAO, Rome, Italie.,1-51
6. Amadou,T ., Hamidou H. T., Balé B., David W. R., Nongasida Y., Moumouni S., (2004) : Prévalence globale des pathologies majeures liées à la production laitière bovine en système d'élevage intraurbain à Hamdallaye (Ouagadougou). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 8 (1), 3–8
7. Amona, I., Miassangoumouka, J.P., Banga-Mboko,H., Adzona, P.P., Rabeson F. A, Ikolakoumou, J., (2016) : Dépistage sérologique de la brucellose bovine par l'épreuve a l'antigène tamponné (EAT) et l'ELISA dans un centre de multiplication et de métayage bovin en république du Congo-Brazzaville. *Journal of Animal &Plant Sciences*, 27(3)., 4315-4329.
8. Attieh, E., (2007) : Enquête séro-épidémiologique sur les principales maladies caprines au Liban. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse., 3, 127.
9. Banai, M., (2002): Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev-1 vaccine: laboratory aspects and field observations. *Vet. Microbiol.*, 90(1), 497-519.
10. Ben Hamouda I., Gouider R., Mrabet A., (2007) : Neurobrucellose.EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Neurologie.*,17-051-B-50.
11. Benkirane, A., (2001) : 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.*, 001, 20 (3), 757-767 .
12. Bodelet, V., (2002) :Brucellose et grossesse revue de la littérature . thèse pour obtenir le grade docteur en medecine .université henri poincaré. Nancy.,132.

13. Bonfoh B., fane A., traore A.P., et al., (2002): Use of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in fermented cow milk. *Milchwissenschaft.*, 57(7), 361-420.
14. Boukary A.R., Saegerman C., Adehossi E., Matthys F., Vias G.F., Yenikoye A., Thys E., (2014) : La brucellose en Afrique subsaharienne. *Ann. Méd. Vét.*, 158(1), 39-56.
15. Bounaadja L., Benoît, C, (2010) : Développement d'une PCR en temps réel pour la détection des *Brucella* et relation avec le genre *Ochrobactrum*. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat Spécialité : Biol.Org. Université de Maine. Nantes., 195.
16. Calveta, F., Heaulmea, M., Michelb, R. et al., (2010) : Brucellose et contexte opérationnel. *Médecine et Armées.*, 38(5), 429-434.
17. Castel, V., (2001) : Enquête sur la prévalence de la tuberculose et de la brucellose dans le cheptel bovin du bassin laitier de Mbarara (Ouganda). Mémoire CEAV. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. France., 81.
18. Chakroun, M., Bouzouaia, N., (2007) : la brucellose : une zoonose toujours d'actualité. *Brucellosis : à topical zoonosis. Rev Tun Infectiol.*, 1(2), 1 - 10.
19. Claude, S., (2004) : Epidémiologie-surveillance Des Événements Rares Chez Les Bovins En Belgique. Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire. Département des Maladies infectieuses et parasitaires. Service de Virologie. Epidémiologie et Pathologie des Maladies virales. Faculté de Médecine vétérinaire. Université de Liège. Belgique., 81.
20. Cloeckert A, Verger JM, Grayon M, Paquet J. Y, Garin-Bastuji B, Foster G et Godfroid J., (2001): Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microbes Infect.* 3(1), 29–38 7.
21. Corbel, M.J., (2006) *Brucellosis in humans and animals* [WHO/CDS/ EPR/7]. World Health Organization, Geneva., 57-59.
22. Corbel, M.J., Brinley Morgan, W.J., (1982) Classification du genre *Brucella* : la situation présente *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1 (1), 291-300.
23. Corner LA, Alton GG, (1981): *Persistence of Brucella abortus strain 19 infection in adult cattle vaccinated with reduced doses. Res Vet Sci*, 31(3),342-4.
24. Dabernat H., Avril J.-L., Denis F., Monteil., (2000) : Bactériologie clinique. Edition Ellipse. 3ème Edition, Edition marketing. Paris., 297-304.
25. Davies G., (1971): The Rose Bengal test. *Vet. Rec.*, 88(1), 447-449.
26. Dean, A.S., Bonfoh, B, Kulo, A.E, Boukaya, G.A., Amidou, M., Hattendorf. J, et al., (2013): Epidemiology of Brucellosis and Q Fever in Linked Human and Animal Populations in Northern Togo. *Plos ONE.*, 8(8), e71501.
27. Delafosse A., Goutard F., Thebaud E., (2002) : Epidémiologie de la tuberculose et de la brucellose des bovins en zone périurbaine d'Abéché, Tchad. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 55(1), 5-13.

28. Detilleux, P. G., Deyoe, B. L., et N. F., (1990): CHEVILLE US Department of Agriculture, National Animal Disease Center, Ames, IA Entry and Intracellular Localization of *Brucella* spp. In Vero Cells: Fluorescence and Electron Microscopy Vet Pathol., 27(5), 317-328.
29. Detilleux, P.G, Deyoe, B.L, Cheville, N.F., (1990): Penetration and intracellular growth of *Brucella abortus* in nonphagocytic cells in vitro. Infect. Immun., 58(7), 2320-2328.
30. Direction des Services Vétérinaires, (2002) : Enquête de séroprévalence de la brucellose chez les petits ruminants, 2000/2001. Bulletin de la situation zoo-sanitaire, 2002.
31. Direction des Services Vétérinaires, (2011) : Données sur la vaccination anti-brucellique des petits ruminants, 2006-2010.
32. Direction des Services Vétérinaires, (2016) : Données sur la prévalence de la brucellose bovine ,2013-2016.
33. Direction des Services Vétérinaires, (2016) : Données sur la vaccination anti-brucellique des petits ruminants, 2014-2016.
34. Ewalt, D.R., Payeur J.B., Rhyan J.C. & Geer P.L., (1997): *Brucella suis* biovar 1 in naturally infected cattle: a bacteriological, serological, and histological study. J. Vet. Diagn. Invest., 10(1), 417–420.
35. Fensterbank R. (1986) : Brucellose des bovins et des petits ruminants : diagnostic, prophylaxie et vaccination Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 5 (3), 587-603.
36. Gall, D., Nielsen, K., (2004) : Comparaison des méthodes sérologiques de diagnostic de la brucellose bovine en termes de performances et de coûts : Numéro pluri thématique de la revue scientifique et technique. Off.Int.Epiz., 23(3), 989-1002.
37. Ganière J.-P. et al., (2016) : La brucellose animale. Brucellose bovine. Polycopie des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises. Merial. Lyon., 9-23.
38. Garrity, G.M., Bell, J.A. & Lilburn, T.G., (2004): Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition. Release 5. 0.. Springer-Verlag, New York., 1-399.
39. Gassin, M., Courtieu., (1978) : Diagnostic sérologique de la brucellose humaine. Feuilles de Biol., 19(1), 41-44.
40. Godfroid J., Al-Mariri A., Walravens K., Letesson J.J., (2003) : Brucellose bovine. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Lefèvre P.C., Blancou J., Chermette R. (ed). Editions Médicales Internationales, Paris, France., 869-889.
41. Gorvel JP and Moreno E. (2002) : *Brucella* intracellular life : from invasion to intracellular replication. Vet. Microbiol., 90(1-4), 281-297.
42. Hasna, A. H., (2013) : Etude séro-épidémiologique de la brucellose animale dans la république de Djibouti. Thèse pour l'obtention du diplôme docteur vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop De Dakar. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Dakar., 89.

43. Hubalek Z., Scholz HC., Sedláček I. et al., (2007): Brucellosis of the common vole (*Microtus arvalis*). *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7(4), 679-687.
44. Hunter, A, Uilenberg, G, Meyer, C, (2006). : *Agricultures tropicales en poches la santé animale*. Volume 2. Principales maladies édition Quae, Versailles Cedex, France., 310.
45. Ibrahim M. S., Mamadou, N., (2011) : évaluation du risque de brucellose lie à la consommation du lait frais dans la commune rurale de cinzana. Thèse pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en Sciences Biologiques Appliquées Biologie des organismes Académie De Nantes. Université du Maine, Nantes., 37.
46. Jouan, M. (2016) : Prophylaxie de la brucellose humaine. Vers une vaccination ciblée de la faune sauvage ? 'Etude du cas des bouquetins du massif du Bargy. Sciences pharmaceutiques. Université Grenoble alpes. Faculté de pharmacie de Grenoble. Dumas-01331098.
47. Journal officiel de la république algérienne, Nov. (2005) : Arrêté interministériel du 13 juin 2005., 20, Arrêté interministériel du 6 septembre 2005., 19.
48. Kardjadj M., Ben-Mahdi M H., (2012) : 4^{eme} journée de l'épidémiologie animale (université de Blida).
49. Kirkwood, B., Sterne, J.A.C., (2003): *Medical Statistics*, 3rd edition. Blackwell Publications, Oxford, UK. 42–49.
50. Ko.J., Splitter,G.A ,(2003) : molecular host-pathogen interaction in brucellosis : *Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding* and future approaches to vaccine development for mice and humans.*Clin.Microbio.Rev.*,16(1), 65-78.
51. Krauss, H., Weber, A., Appel, M., et al., (2003): *Zoonosis Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans*. 3^{ème} édition. ASM Press. Canada., 456.
52. Larry, S., (2002): Oregon State Public Health Laboratory. Centers for Disease Control and Prevention. Public Health Image Library (PHIL). <https://www.phil.cdc.gov/phil/details.asp> .consulté le 1/3/2017.
53. Lefevre P C., Blancou J., Chermette R., (2003) : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail (Europe et Régions Chaudes) Editions Tec et Doc, Editions Médicales Internationale. Londres, Paris, New York., 869-886.
54. Liautard, J P., Gross, A. Dornand, J, Köhler, S., (1996) : Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp. *Microbiologia.*, 12(2), 197-206.
55. Lounes, N., Kadri, R., (2007) : séroprévalence de la brucellose animale dans la région centre et impact sur la santé publique. Thèse pour l'obtention du diplôme magistère. Université Saad Dahlab de Blida. Faculté des sciences agrovétérinaires et biologiques Département des sciences vétérinaire. Blida.
56. M.A.D.R., (Ministère De L'agriculture et Développement Rurale), (2016) : données sur la situation de la brucellose dans la wilaya de Médéa, 2005/2015.

57. Ministère De L'agriculture et Développement Rurale- Direction Des Services Vétérinaires), « M.A.D.R-D.S. V », (2013) : bulletin sanitaire vétérinaire. Situation sanitaire annuelle. La brucellose. Alger (Algérie).
58. Ministère De L'agriculture et Développement Rurale- Direction Des Services Vétérinaires) « M.A.D.R-D.S. V » (2015) : bulletin sanitaire vétérinaire. Situation sanitaire annuelle. La brucellose. Alger (Algérie).
59. Ministère De La Santé Publique « M.S.P », (2015) : Programmes nationaux de prévention, évaluation et retro-information. Séminaire régional d'évaluation. Alger.
60. Marie,C ., Sibille ,A., Guy Bodin. M., (2006) : Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie). Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse., 27-51.
61. Maurin, M., (2005) : La Brucellose à l'Aube du 21e siècle. Méd Mal Infect., 35(1), 6-16.
62. Maurin, M., (2007) : Brucella. In : Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P. Précis de Bactériologie Clinique. 2 édition. ESKA, Paris., 1377-1385.
63. McCaughey, W.J., (1972): Brucella milk ring test on churn samples: a three-year study. Vet. Rec., 90(1), 6-10
64. Memish, Z.A, Balkhy, H.H., (2004): Brucellosis and international travel. J.Travel Med ., 11(1), 49-55
65. Michaux-Charachon, S., Foulongne, V., O'Callaghan, D., Ramuz M., (2002): Brucella at the dawn of the third milenium: genomic organization and pathogenesis. Pathol. Biol. Paris., 50(6), 401-412.
66. Noémie, C., C Camille, C., Elodie, A, Renaud, M., (2010) : site internet d'aide au diagnostic des avortements bovins. Thèse pour le doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort la faculté de médecine de Créteil., 119.
67. Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), (2014) : le prélèvement d'échantillons et le diagnostic de la brucellose Département fédéral de l'intérieur DFI. Confédération Suisse. F 01-08/190.
68. Office international des épizooties « OIE », (2016) : Brucellosis. Brucella abortus, B melitensis and B.suis .infection with brucella abortus , B melitensis and B.suis .OIE Terrestrial Manual .Chapitre 2.1.4., 1-44.
69. Office international des épizooties « OIE » (2005) : Brucellose Ovine Et Caprine. Infection à Brucella ovis exclue. Chapitre 2.4.2., 1066-1975.
70. Office international des épizooties « OIE », (2005) : brucellose bovine. Manuel terrestre de l'OIE section 2.3. Maladies bovines de la liste b. chapitre 2.3.1., 457-488.
71. Office National Des Statistiques « ONS », (2014) : l'Algérie en quelques chiffres. Résultat :2011/2013. N° 44.

72. Organisation mondiale de la sante « OIE » (1986) : Comite mixte FAO/OMS d'expert de la brucellose sixieme rapport, serie de rapport techniques 740, OMS, Genève., 8-37.
73. Organisation Mondiale De La Santé « OMS », (2006) : Brucellosis In Humans And Animals. Organisation mondiale de la Santé. Genève., 86.
74. Organisation Mondiale De La Santé Animale « OIE » (2007) : Santé animale mondiale. Paris., 619.
75. Ouédraogo, M., (2001). – Épidémiologie de la brucellose bovine : modèle Bayésien de prédiction de la prévalence sur la base des tests combinés. Thèse pour l'obtention du grade de Master of Sciences, Institut de médecine tropicale d'Anvers (IMTA)., 53.
76. Plommet, M., Fensterbank, R., (1979) : La vaccination antibrucellique des bovins avec la souche B19 administrée par voie conjonctivale. Bull. Group. Tech. Vét., 79, 6B, 164.
77. Pouillot, R., Garin-Bastuji, B., Gerbier, G., Coche, Y., Cau, C., Dufour, B. & Moutou, F., (1997). The brucellin skin test as a tool to differentiate false positive serological reactions in bovine brucellosis. Vet. Res., 28(1),365–374.
78. Probert W.S., Schrader K.N., Khuong N.Y., et al., (2004): Real-time multiplex PCR assay for detection of *Brucella* spp., *B. abortus*, and *B. melitensis*. J. Clin. Microbiol., 42(1), 1290–1293.
79. Rabinovitch, M., (1995) : Professional and non-professional phagocytes : an introduction. Trends Cell. Biol., 5(3), 85-87.
80. Rahal, K., Dahmani, A., Bennadji, A. (2009) : Brucellose des petits ruminants. Stratégie de lutte, dans le contexte algérien. Recueil des Ateliers d'épidémiologie animale., 1(1), 20-24.
81. Rahman, M. S., Her, M., Kim, J.Y., Kang, S. I., Lee, K., Uddin, J. U., Chakrabartty, A., Jung, S. C., (2012): Brucellosis among ruminants in some districts of Bangladesh using four conventional serological assays. African Journal of Microbiology Research., 6 (22), 4775-478.
82. Revel M.C., Gourmelon M.C.S., Vidal P.C., (2005) : Menace terroriste approche médicale : Nucléaire, Radiologie, Biologique, Chimique. John Libbey Eurotext, Montrouge paris, France, 226-229.
83. Roop, R.M., Preston-Moore, D., Bagchi T. & Schurig G.G. (1987): Rapid Identification of smooth *Brucella* species with a monoclonal antibody. J. Clin. Microbiol., 25, 2090–2093.
84. Roux, J., (1989) : *Brucella* in Le Minor L & Veron M. édition Bactériologie Médicale. Flammarion, Paris., 651-670.
85. Roux, J., (1979) : Epidémiologie et prévention de la brucellose Bulletin de l'Organisation mondiale de la Sante., 57 (2), 179-194.
86. Scholz, H.C., Nöckler K., Göllner C., Bahn P., et al., (2010) : *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 60(1), 801-808.
87. Sohn, Ah, Probert, W. S, Glaser, C. A et al., (2003): Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. Emerg.Infect.Dis., 9(4) :485-8.

88. Todd P, Audra M., (2010): Centers for Disease Control and Prevention. Public Health Image Library (PHIL). <https://www.phil.cdc.gov/phil/details.asp>. Consulté le 1/3/2017.
89. Toma, B., Dufour, B., Bénet, J.J., Sanaa, M., Shaw, A., Moutou, F., (2009) : Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 3^{ème} édition, AEEMA 2010.
90. Valette, L., (1987) : La réaction ELISA dans le diagnostic de la brucellose animale. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 40 (4), 341-345.
91. Verger, J.M., Garin-Bastuji, B., Grayon, M., Mahe, A.M., (1989) : La brucellose bovine à *Brucella melitensis* en France. Annales de Recherches Vétérinaires, 20 (1), 93-102.

Annexes

Matériels de prélèvement sanguin :

- Tubes de prélèvements type vacutainer, AYSET ® TUBE, 10 ml.
- Aiguilles 18G, AYSET ® Multi-Saple Needle.
- Corps de prélèvement sanguin.



Matériels de prélèvement du sérum

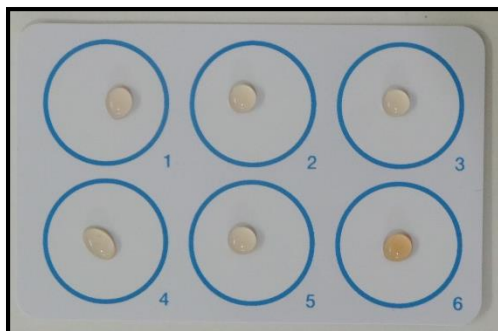
- Centrifugeuse.
- Tubes Eppendorf.
- Micropipette 50 µl.
- Embouts à usage unique.

Matériels utilisés lors de la technique de la coloration au Rose Bengale

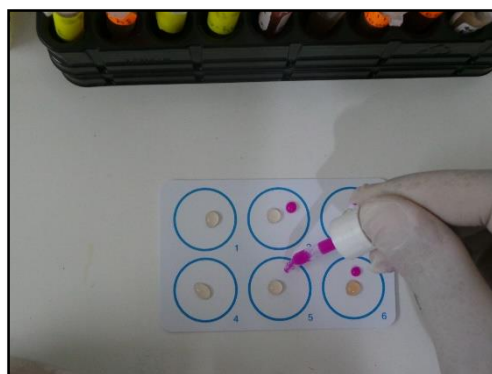
- Micropipette 50 µl.
- Echantillons des sérums sanguins.
- Réactif coloré au Rose Bengale.
- plaques d'hémagglutination.
- Tiges bâtonnet jetables en plastique.
- Agitateur mécanique.

Technique de la coloration au Rose Bengale

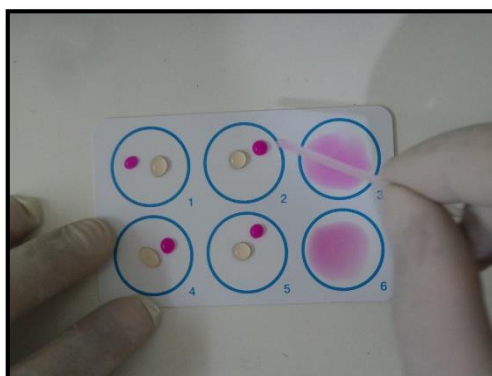
1-Dépôt des sérums



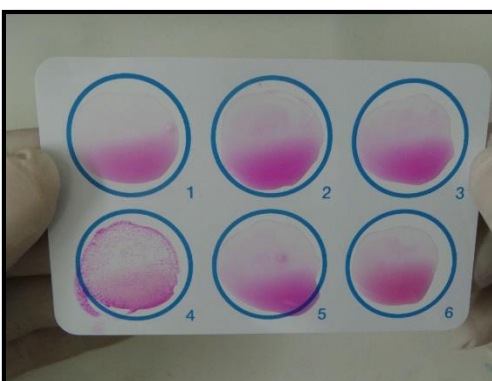
2-Distribution de l'antigène



3-Mélange antigène/sérum



4-Lecture des résultats



Questionnaire

Commune :

Région :

Numéro d'élevage :

Informations générales

type d'élevage	Intensif	extensif

Taille de l'élevage	BV	BV ,OV		BV,CAP		BV,Ov,CAP			Autre
		BV	Ov	BV	CAP	BV	Ov	CAP	

Séparation des espèces animales :

Bovins séparés des autres espèces tant dans le bâtiment que dans les pâtures : ☐ oui

☐ Non

Informations sur les bovins femelles :

Nbr de femelles par tranche D'âge	< 1 ans	1 ans	2 ans	3 ans	4 ans	5 ans

Etat de parturition	Nouvellement mise à la reproduction	Multipare	Primipare

L'année d'introduction des bovines présents dans l'exploitation :

année	2012	2013	2014	2015	2016

origine de l'animal	Importation	Marché à bestiaux	

Contrôle avant l'introduction de l'animal ☐ oui ☐ non

Echantillon

	Le code du prélèvement	âge de l'animal	Monte où IA	Stade de gestation	Année d'introduction dans l'exploitation
1					
2					
3					
4					
5					
6					

La prophylaxie sanitaire

Hygiène de la reproduction

Contrôle de la monte publique ☐ Oui

☐ Non

Insémination artificielle ☐ Oui

☐ Non

Désinfection périodique des locaux..... ☐ Oui

☐ Non

Isolement des parturientes ☐ Oui
☐ Non

(Dépistage) contrôle régulier du cheptel..... ☐ Oui
☐ Non

La prophylaxie médicale

La pratique de la vaccination anti brucellique

L'année	OV	oui	non	CAP	oui	Non
2014						
2015						
2016						

Résumé

En Algérie, la brucellose constitue jusqu'à présent une source de préoccupation malgré les plans de lutte qui font l'objet depuis 1970, cependant à partir de 1995 un programme basant sur le (dépistage/abattage) est mise en place. De plus, une nouvelle approche prophylactique visant la vaccination des petits ruminants a été mise en application depuis 2006 dans les régions à haut risque zoonotique. La présente investigation est effectuée dans le but d'évaluer l'effet de la vaccination anti-brucellique des petits ruminants sur la prévalence de la brucellose bovine. Pour cela, l'étude a été réalisée dans la région de Ras el Oued où l'élevage occupe la tête du classement à l'échelle de la wilaya de Bordj Bou Arreridj. 79 exploitations ont été visitées entre le mois de novembre et décembre 2016 où 281 sérums ont été prélevés auprès de toutes les vaches des exploitations et à chaque visite des données ont été recueillies concernant : l'âge, le type d'élevages, le contrôle à l'introduction, l'état de parturition, la vaccination des petits ruminants ainsi que quelques informations complémentaires afin que l'investigation soit enrichie. Après que les sérums ont été analysés à ETA et confirmés par ELISA indirect. Les résultats obtenus montrent une séroprévalence globale à l'échelle du troupeau et individuelle respectivement de 18,99% et 7,11% soulignant l'importance de la maladie dans la région. Par ailleurs l'étude a pu démontrer d'une part que les programmes de luttés misent en œuvre demeurent toujours insuffisantes et/ ou sujette à des entraves pour leurs applications et que d'autre part, la vaccination anti-brucellique des petits ruminants joue un rôle bénéfique sur la régression de la prévalence de la brucellose bovine à l'échelle du troupeau et intra-troupeau. Ces résultats incitent l'application des mesures strictes de prophylaxies sanitaire ainsi que le recours à une prophylaxie médicale visant à réduire le niveau de la prévalence jusqu'au point où il devient possible, sans graves pertes économiques, de procéder à l'élimination des animaux positifs tout en permettant la protection des élevages sains.

Mots clé : Brucellose, bovine, petits ruminants, vaccination.

Abstract

The brucellosis in Algeria still until today a source of concern despite the fighting plans which was founded since 1970, however starting from 1995 a program was set up based on (screening / slaughtering). in addition, a new prophylactic approach aimed the vaccination of a small ruminant which was implemented in high risked zoonotic area in 2006. The following investigation was made to evaluate the effect of anti-brucellic vaccination of small ruminants on the prevalence of the Bovine brucellosis. For this the study was realized in the area of Ras El Oued where the rearing occupied the head of classification at the wilaya of Bordj Bou Arreridj. about 79 farms where visited between the months of November and December 2016. there was a sample of 281 serums from all the cows of the visited farms and in every visit there was collected data about: Age, rearing type, control at the introduction. parturition state, the small ruminants' vaccination as well as some additional information so that the enrichment of the investigation was done. after the analysis of serums by ETA and confirmed by ELISA indirectly. the obtained results show a global seroprevalence on the herd and individual scale respectively from 18.98% there is 7.11% stressing the importance of disease in the area. In the other side studies shows that the implemented fighting program still insufficient and about the subject contains restrictions for its application in other hand the anti-brucellic vaccination of a small ruminants plays beneficial role on the regress of bovine brucellosis on the herd and within-herd scale. This results encouraging the application of strict measures of sanitary prophylaxis as well a prophylaxis medical recourse aimed to reduce the prevalence level into a possible point without serious economic loss, to proceed the elimination of positive animals to protect the healthy rearing.

Key words: brucellosis, Bovine, small ruminants, vaccination.

ملخص

في الجزائر، لا يزال مرض البروسيللا يشكل مصدر قلق على الرغم من خطط السيطرة التي كانت محل التنفيذ منذ عام 1970، ولكن منذ عام 1995 تم تأسيس برنامج قائم على أساس (الفحص / الذبح). وبالإضافة إلى ذلك، تم اتخاذ نهج جديد يقتصر على التطعيم الوقائي للمجترات الصغيرة منذ عام 2006 في المناطق ذات الطابع الأخطر بالنسبة للأمراض حيوانية المنشأ. وقد أجريت الدراسة الحالية لتقييم تأثير تطعيم المجترات الصغيرة ضد البروسيللا حول إنتشار الحمى المالطية لدى الأبقار. لها الصدد أجريت هذه الدراسة في منطقة رأس الوادي التي تحتل الصدارة من حيث الثروة الحيوانية لولاية برج بو عرييج 79 مزرعة عوينت بين شهري نوفمبر وديسمبر 2016 حيث تم جمع 281 مصل من جميع الأبقار وفي كل زيارة تم جمع بعض البيانات فيما يخص : العمر، نوع التربية، المعالجة قبل الإدماج، وحالة الولادة وتطعيم المجترات الصغيرة وكذلك بعض المعلومات الإضافية لإثراء التحقيق. وبعد تحليل الأمصال بـETA والتأكد بـELISA غير المباشرة. تشير النتائج إلى انتشار عام للمرض على مستوى القطيع والأفراد من 18.99% و 7.11% على التوالي، مما يؤكد أهمية هذا المرض في المنطقة. وعلاوة على ذلك كانت الدراسة قادرة على إثبات أولاً أن البرامج المعتمدة للمكافحة ما تزال غير كافية و / أو تخضع لقيود تمنعها من التطبيق ومن ناحية أخرى، عملية تطعيم المجترات الصغيرة لمكافحة الحمى المالطية تلعب دور مفيد في الحد من انتشار مرض البروسيللا لدى الأبقار على مستوى القطيع وضمن القطيع. تشجع هذه النتائج على تنفيذ تدابير صارمة للوقاية الصحية واستخدام الوقاية الطبية للحد من معدل الإصابة بمرض إلى النقطة التي يصبح من الممكن، و من دون خسائر اقتصادية جسيمة، على المضي قدماً في التخلص من الحيوانات المصابة وحماية المزارع السليمة.

الكلمات المفتاحية: البروسيللا، الأبقار، المجترات الصغيرة، التطعيم.