

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**

**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**وزارة التعليم العالي و البحث العلمي**

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER**

**المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر**

**Mémoire de Magistère en Sciences Vétérinaires**

**Option : Zoonoses Infectieuses : Diagnostic et thérapeutique**

**Evaluation de l'efficacité vaccinale du vaccin Rev1  
en Algérie**

**Présenté par : ABDELHAMID Zehira  
Epouse BRIXI GORMAT**

**Le jury :**

- Président	Mme TEMIM, S	Professeur	ENSV Alger
- Promoteur	Mme BENMAHDI, M.H	Professeur	ENSV Alger
- Examineur	Mme AISSI, M	Professeur	ENSV Alger
- Examineur	Mr LAMARA, A	Maitre de conférences classe B	ENSV Alger
- Examineur	Mr ZAOUANI, M	Maitre Assistant classe A	ENSV Alger

**Année universitaire : 2012/2013**



*A la mémoire des personnes chères que j'ai perdu lors de la réalisation de ce travail :*

- *A ma grand-mère dont les conseils me guident chaque jour.*
- *A mon beau-père qui m'a fait connaître le bonheur d'avoir un papa.*

*A la petite étoile qui est apparu dans mon ciel, à ma belle princesse Narimane.*

*A mon mari Karim, mon compagnon de toujours dans les moments de joie mais aussi de peine.*

*A mon grand-père Sido, que Dieu nous le protège.*

*A ma mère Fatiha, qui veille toujours sur moi et me soutien dans les moments difficiles.*

*A ma belle-mère Salima, pour sa disponibilité, son aide et pour sa gentillesse envers moi.*

*A mes sœurs Katiba et Nadja qui continuent à prendre soin de leur petite sœur.*

*A mes belles-sœurs Ghazlane, Shahnez et Hynd pour les remercier de la place qu'elles m'ont accordée dans la famille mais aussi dans leur cœur.*

*A mes frères Malik et Fouad.*

*A mes beaux-frères Samir, Mounir, Kamel et Aissam.*

*A mes nièces Asmaa, Anissa, Ferial, Asma et Lina et mes neveux Wassim et Adlane.*

*A mes amies Sabrina et Amel.*

*A toute la famille Abdelhamid, Guellati et Bixi*

*A la mémoire de mon défunt père, qui est parti trop tôt en espérant qu'il aurait été fier de sa petite dernière.*

## **REMERCIEMENTS**

**A Madame le Professeur BENMAHDI. M.H;**

*Pour son aide, ses conseils, sa disponibilité, sa contribution efficace  
et ses encouragements qui ont été déterminants pour  
l'accomplissement de ce travail.*

**A Madame le Professeur TEMIM**

*Qui m'a fait l'honneur de présider mon jury  
Hommage respectueux.*

**A Madame le Professeur AISSI,**

**A Messieurs le Docteur LAMARA et le Docteur ZAOUANI**

*Qui ont accepté d'examiner mon travail  
Sincères remerciements.*

**Au Docteur BOUGHALEM. K, Directeur des Services Vétérinaires au  
Ministère de l'Agriculture et du développement rural**

**Au Docteur DAHEUR, Inspecteur vétérinaire principal à la direction  
vétérinaire régionale de la wilaya de Tlemcen**

&

**Au Docteur GHOMRI, Inspecteur vétérinaire à la direction vétérinaire  
régionale de la wilaya de Tlemcen**

*Pour leur disponibilité lors de la réalisation de ce travail  
Qu'ils reçoivent le témoignage de toute mon estime et mes sincères  
remerciements.*

*Mes vifs remerciements vont également à Madame DJELLOUT maitre  
assistante à l'Ecole Nationale Supérieur Vétérinaire et au personnel du  
laboratoire régional de médecine vétérinaire de Tlemcen.*

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Incidence annuelle de la brucellose humaine de 1990 à 2009 en Algérie.....	10
<b>Figure 2</b>	Nombre de cas de brucellose humaine déclarés en Algérie.....	11
<b>Figure 3</b>	Nombre de foyers caprins.....	12
<b>Figure 4</b>	Nombre de foyers ovins.....	12
<b>Figure 5</b>	Organigramme décisionnel pour le contrôle de la brucellose.....	22
<b>Figure 6</b>	Evolution de l'effectif vacciné depuis le début de la campagne de vaccination.....	24
<b>Figure 7</b>	Localisation géographique de la Wilaya de Tlemcen.....	33
<b>Figure 8</b>	Situation géographique des daïras retenues dans l'étude.....	34
<b>Figure 9</b>	Résultat de l'EAT.....	38
<b>Figure 10</b>	Composants du Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect.....	39
<b>Figure 11</b>	Microplaque ELISA avant sa lecture.....	41
<b>Figure 12</b>	Réponses sérologiques vaccinales globales à J 30.....	43
<b>Figure 13</b>	Cinétique de la réponse sérologique entre J0 et J180 post vaccination.....	44
<b>Figure 14</b>	Etude comparative des résultats obtenus par ELISA et EAT.....	45
<b>Figure 15</b>	Mesures de protection prises par les vétérinaires.....	52
<b>Figure 16</b>	Pourcentage de vétérinaires vaccinant les femelles gestantes.....	52
<b>Figure 17</b>	Perception du vaccin par les vétérinaires.....	53

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	Tableau récapitulatif des avantages et inconvénients de chaque stratégie.....	25
<b>Tableau II</b>	Etude des effets des différentes voies d'administration du vaccin Rev1.....	30

<b>Tableau III</b>	Répartition des sujets prélevés.....	34
<b>Tableau IV</b>	Répartition des ovins analysés en fonction du sexe et de l'âge.....	35
<b>Tableau V</b>	Chronologie des prélèvements effectués et nombre de sujets prélevés...	37
<b>Tableau VI</b>	Sensibilité et spécificité de l'ELISA indirect.....	39
<b>Tableau VII</b>	Composants du Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect..	40
<b>Tableau VIII</b>	Réponse sérologique des animaux 30 jours et 60 jours après la vaccination.....	44
<b>Tableau IX</b>	Influence du sexe sur la réponse vaccinale à J30 & J60.....	46
<b>Tableau X</b>	Présentation des résultats obtenus pour la variable âge à J30, J60.....	47
<b>Tableau XI</b>	Influence de la variable âge sur les séroconversions des femelles à J30 et J60.....	48
<b>Tableau XII</b>	Influence de la variable âge sur les séroconversions des mâles à J30 et J60.....	49
<b>Tableau XIII</b>	Influence de la variable âge sur la réponse sérologique à J180.....	50
<b>Tableau IV</b>	Influence de la variable sexe sur la réponse sérologique à J180.....	50

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>DSV</b>	Direction des services vétérinaires.
<b>SMIG</b>	Salaire minimum interprofessionnel garanti.
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique.
<b>Mb</b>	Mégabase
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide.
<b>S-LPS</b>	Smooth Lipopolysaccharide.
<b>R-LPS</b>	Rough lipopolysaccharide
<b>Fc</b>	Fragment crystalline.
<b>BCV</b>	Brucella containning vacuole.
<b>CMH</b>	Complexe majeure d'histocompatibilité.

<b>IL</b>	Interleukine.
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor necrosis factor
<b>INF<math>\gamma</math></b>	Interféron
<b>Ig</b>	Immunoglobuline.
<b>TLR</b>	Toll-Like Receptor.
<b>FAO</b>	Food and agriculture organization
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé.
<b>OIE</b>	Office internationale des épizooties.
<b>INSP</b>	Institut nationale de la santé publique.
<b>UFC</b>	Unité formant colonie
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction
<b>EAT</b>	Epreuve à l'antigène tamponné.
<b>ELISA</b>	Enzyme liked Immuno Sorbent Assay.
<b>IU</b>	International unit.
<b>DO</b>	Densité optique.
<b>TCF</b>	Complement fixation test.

### INTRODUCTION

La brucellose des petits ruminants est une maladie infectieuse contagieuse à caractère zoonotique largement répandue dans le monde et en Algérie, dont l'agent causal est *Brucella melitensis* (Lefevre et al, 2003).

C'est une maladie à déclaration obligatoire (JORA, N°16 du 15 mars 2006) dont l'importance est liée d'une part à la fréquence et la gravité des cas humains contractés à partir de l'animal et de ses productions (Anonyme(a), 2004) et d'autre part à ses conséquences économiques en élevage : pertes de production (avortements, stérilités, pertes en lait...etc) et entraves aux échanges commerciaux d'animaux et produits dérivés (Benkirane, 2001), sans oublier les pertes dues au coût du traitement de la maladie chez l'homme (Akakpo et al, 2009).

La brucellose des petits ruminants est de répartition mondiale, elle est endémique dans certains pays européens, et particulièrement dans les régions méditerranéennes, dans l'Amérique latine à l'exception du Brésil et du Chili, dans le centre et l'ouest de l'Asie, dans le Moyen Orient et en Afrique (Megid et al, 2010).

Ces dix dernières années, en Algérie, le nombre de foyers ovins a varié entre quatre et trente deux foyers avec un pic de quarante sept foyers en 2005 (DSV, 2012).

Par conséquent, la mise en place des programmes de lutte contre la brucellose animale constitue non seulement une composante très importante, mais également incontournable de la lutte contre la brucellose humaine.

Diverses stratégies peuvent être adoptées séparément ou conjointement pour le contrôle puis l'éradication de la brucellose animale :

- La vaccination généralisée de toute la population animale réceptive ;
- Une combinaison de l'abattage des animaux reconnus atteints et de la vaccination sélective limitée à un groupe d'âge donné ou une zone du pays ;
- L'abattage sanitaire seul : notons que cette stratégie n'a jamais été appliquée à la brucellose des petits ruminants dans les pays d'Afrique du nord (Nicoletti, 2010).

En Algérie, la prévalence élevée de la brucellose chez les petits ruminants et l'augmentation du nombre des cas de brucellose humaine déclarés ont conduit; en 2006 ; les autorités compétentes à lancer un programme de vaccination en masse des petits ruminants au niveau

de 11 wilayas du pays. Chaque année de nouvelles wilayas sont introduites dans le programme, le critère de choix étant une prévalence élevée de la brucellose animale et humaine.

Ces campagnes de vaccination ont pour objectif la réduction de la prévalence animale ce qui permettra d'entamer une deuxième phase du programme de lutte qui est la vaccination sélective qui sera suivie par une prophylaxie sanitaire et enfin l'éradication de la brucellose comme objectif final.

Le vaccin Coglarev® souche Rev1 commercialisé par CEVA Santé Animale a été l'unique vaccin utilisé durant toutes ces campagnes de vaccination. Néanmoins, il n'existe actuellement aucune donnée ni étude réalisée sur l'efficacité vaccinale de ce vaccin sur le cheptel algérien.

L'objectif principale de cette étude a été par conséquent l'évaluation de l'efficacité du vaccin Coglarev® souche Rev1, utilisé dans les campagnes de vaccination anti-brucellique dans le cheptel algérien depuis 2006. L'influence notamment du sexe et de l'âge des sujets étudiés a également été analysée.

De plus, sachant qu'un programme de lutte contre la brucellose ne peut être mené avec succès sans l'implication active des vétérinaires, un questionnaire leur a été distribué, afin de faire le point sur leur perception de cette campagne et leur connaissance du vaccin qu'ils administrent.

Le présent manuscrit a été ainsi scindé en deux parties :

- Une première partie, correspondant à une synthèse bibliographique comportant deux chapitres principaux. Le premier reprend en revue la brucellose, son importance et des techniques de son diagnostic. Le second chapitre traite des moyens de contrôle et d'éradication de la brucellose et notamment des vaccins anti-brucelliques.
- La seconde partie consacrée à l'étude expérimentale, a porté sur l'évaluation sérologique de l'efficacité du Coglarev® souche Rev1 et sur les conditions de son utilisation et sa perception par les praticiens vétérinaires. Les matériels utilisés et les méthodes adoptées lors de notre étude expérimentale y seront détaillés et les résultats obtenus présentés et discutés.

# *Chapitre I*

*« Généralités sur  
la brucellose des  
petits ruminants »*

## I. Généralités sur la brucellose des petits ruminants

### I.1. Définition de la brucellose

La brucellose des petits ruminants est une maladie infectieuse, contagieuse, d'allure chronique, largement répandue dans le monde et dont l'agent causal est *brucella melitensis* (biovars 1, 2 et 3) (*Lefevre et al, 2003*).

Zoonose majeure, la contamination humaine est accidentelle, elle se produit en général par contact avec des animaux infectés ou par ingestion de produits laitiers contaminés. (*Michaux-charachon et al, 2002*).

En Algérie, la brucellose est une maladie à déclaration obligatoire selon l'article 2 du décret exécutif n°96-66 (*JORA, N°16 du 15 mars 2006*) (cf *Annexe I*).

### I.2. Historique

La plus ancienne description de la maladie chez l'homme remonterait à Hippocrate (460 - 377 avant notre ère) (*Lefevre et al, 2003*). Mais la première description clinique fiable de la brucellose est attribuée à Allen Jeffery Marston en 1859 (*Maurin, 2004*). En 1887, David Bruce isole l'agent causal de la rate d'un soldat mort (*Blancoo et al, 2004 ; Seleem et al, 2009*). En 1905, Zammit a isolé la bactérie à partir du sang de chèvre (Nicoletti, 2002) et a démontré le caractère zoonotique de la maladie en isolant l'agent pathogène à partir de lait de chèvre (*Godfroid et al, 2005*).

En Algérie, Cochez en fit la première description à Alger en 1895, et en 1899, Legrain décrivait la maladie dans la vallée de la Soummam (*Lounes, 2007*).

### I.3. Importance

La brucellose est une maladie de répartition mondiale mais dont l'importance hygiénique et économique est diversement perçue à travers le monde. (*Akakpo et al, 2009*).

L'importance de la brucellose est liée d'une part à la fréquence et à la gravité des cas humains (*Anonyme(a), 2004*), *brucella melitensis* étant l'agent responsable de la plupart des cas cliniques sévères de brucellose humaine (*Benkirane, 2001*) et d'autre part à ses pertes économiques dues aux conséquences de la maladie chez les animaux mais également chez l'homme (*Benkirane, 2001*).

La brucellose peut ainsi entraîner la stérilité et la diminution de la production laitière des animaux infectés. Elle est également à l'origine de pertes indirectes, lesquelles sont associées aux coûts des interventions vétérinaires et à la reconstitution des cheptels, ainsi qu'au manque à gagner lié au frein imposé aux mouvements et aux commerces des animaux (*Benkirane, 2001*).

En Algérie, le financement public du coût de la maladie chez l'Homme s'élève à 1°897°288 Euros (*Akakpo, 2009*). En ne prenant en compte que les cas aigus septicémiques, nécessitant en moyenne 7 jours d'hospitalisation et 45 jours de soins à domicile, les dépenses pour chaque patient équivalent à huit mois de SMIG. (*Benkirane, 2001*).

## I.4. Description de l'agent étiologique

### I.4.1. Taxonomie

Domaine : Bacteria ;

Embranchement XII : Proteobacteria (*Tortora et al, 2003*) ;

Classe :  $\alpha$  Proteobacterie (*Prescott et al, 2003*) ;

Ordre VI : Rhizobiales ;

Famille III : BRUCELLACEAE ;

Genre : Brucella ;

Espèce : *Brucella melitensis*. (*Ficht, 2010*)

Les études taxonomiques basées sur les techniques d'hybridation ADN/ADN montrent qu'il n'y aurait qu'une seule espèce qui est *Brucella melitensis* (*Banai et Corbel, 2010 ; Avril, 1997*), les autres espèces ne représenteraient que des biovars de cette unique espèce (*Krieg et Holt, 1984 ; Moreno et al, 2002*).

La séquence complète de *Brucella melitensis* souche 16 M est disponible depuis 2001 (*Maurin, 2004*). La bactérie possède deux chromosomes circulaires de 1,15 Mb et 2,1 Mb, soit un génome d'environ 3,2 Mb (*Charachon et al, 2002 ; Delvecchio et al, 2002*).

#### I.4.2. Caractères bactériologiques

Les brucelles sont des bactéries aérobies de petite taille qui se présentent sous forme de coccobacilles Gram négatif immobiles, non capsulés et non sporulés (*Desachy, 2005*) qui se colorent par la coloration de Stamp (*Larpen et Gourgaud, 1997*).

Leur métabolisme respiratoire est chimioorganohétérotrophe et leur culture nécessite des milieux complexes enrichis (*Singleton, 2005*).

*Brucella melitensis* forme des colonies lisses (smooth) et est sensible à plusieurs antibiotiques, ce qui permet de la différencier de la souche Rev1, qui est sensible à la benzyl penicilline et résistante à la streptomycine. (*Anonyme(b), 2001*).

La bactérie est catalase, oxydase et uréase positive (*Grosjean et al, 2009*).

La manipulation de brucella reste dangereuse. La bactérie est considérée comme étant un agent potentiel de bioterrorisme (*Tortora et al, 2010*)

#### I.4.3. Caractères antigénique

Le lipopolysaccharide (LPS) est l'antigène de surface le plus immunogène. Ce LPS est caractérisé par une variation de phase à l'origine des phénotypes lisse (S-LPS) et rugueux (R-LPS) (*Maurin, 2004*).

Il existe deux types d'antigènes de surface S-LPS : A et M. Chez *Brucella melitensis*, c'est l'antigène M qui est prédominant (*Mantur et Amarnath, 2008*).

Les chaînes latérales polysaccharidiques (antigène O) du S-LPS sont responsables des réactions croisées entre *Brucella* spp et *Yersinia enterocolitica* O :9 (*Corbel, 1997*).

L'antigène lipopolysaccharide joue un rôle important dans les mécanismes de virulence et de réplication des Brucelles (*Seleem et al, 2006*).

## I.5. Pathogénie et réponse immunitaire

### I.5.1. Pathogénie

Les *Brucella* sont des bactéries intracellulaires facultatives (*Maurin, 2004*) qui résistent à la phagocytose par les neutrophiles, se répliquent à l'intérieur des macrophages et des phagocytes non professionnels et maintiennent une longue interaction avec les cellules de l'hôte (*Sérgio et al, 2010*).

La bactérie pénètre l'organisme par ingestion ou par voie cutanéomuqueuse (*Ko et Splitter, 2003*).

L'invasion des macrophages est précédée par une bactériémie transitoire qui peut ne pas être détectée du fait du faible nombre des brucelles (10-100 bactéries seulement) (*Pappas et paradimitriou, 2007*).

Au cours de la période d'incubation qui dure en moyenne 15 jours (*Chakroun et Bouzouaia, 2007*), la bactérie est transportée libre ou à l'intérieur des cellules phagocytaires aux nœuds lymphatiques régionaux (*Ko et Splitter, 2003*), au niveau desquels, elle va se multiplier (*Anonyme(a), 2004*). Des nœuds lymphatiques régionaux, les brucelles passent dans le canal thoracique pour rejoindre la circulation sanguine et différents organes ou tissus, notamment, les articulations, le placenta et l'utérus (*Léon et al, 2003*).

L'infection à *Brucella* requiert 4 étapes : l'adhérence, l'invasion, l'établissement et la dissémination (*Christopher et al, 2010*).

Le mécanisme exact de pénétration de la bactérie dans la cellule hôte reste méconnu (*Adams et Schutta, 2010*).

Les modes de pénétration de la bactérie varient d'un type cellulaire à un autre, ils sont également variables selon que la bactérie soit ou non opsonisée (*Reboul, 2009*). En effet, les bactéries opsonisées sont internalisées grâce au récepteur du complément (Fc) (*Xavier et al, 2010*), tandis que les bactéries non opsonisées requièrent des microdomaines membranaires riches en cholestérol appelés « lipid raft » (*Watarai et al, 2002*).

Après son internalisation, *Brucella* forme une vacuole précoce nommée « early BCV » (Brucella Containing Vacuole) (Adams *et al*, 2010), à la suite d'une interaction avec les endosomes précoces, la vacuole s'acidifie (Reboul, 2009) et fusionne avec la membrane du réticulum endoplasmique (Celli, 2005). La vacuole se transforme par la suite en une vacuole répliquative dans laquelle *Brucella* se réplique. Ce compartiment est spécifique à *Brucella*, pour cette raison il a été appelé brucellosome (Adams *et Schutta*, 2010).

Le placenta constitue le lieu de prédilection de la multiplication des *Brucella*, car les cellules du chorion secrètent de nombreuses hormones qui stimulent leur croissance (Léon *et al*, 2003). La répliquation rapide et extensive de la bactérie peut compromettre l'intégrité du placenta et infecter le fœtus, ce qui peut conduire à un avortement ou la naissance d'un nouveau né affaibli (Xavier *et al*, 2010).

Dans les macrophages, la phagocytose de *Brucella* par des phagocytes professionnels donne naissance à deux types de phagosomes : des phagosomes classiques de type spacieux qui aboutissent à la lyse de la bactérie, ou des phagosomes de type étroit qui permettent la survie de la bactérie (Charachon *et al*, 2002).

### I.5.2. Réponse immunitaire

L'infection à *Brucella* induit une réponse immunitaire de type humorale et cellulaire. L'intensité et la durée de cette réponse dépendent de la virulence de la souche, de la taille de l'inoculum et de l'état gestationnel de l'animal (Anonyme(b), 2001).

Les neutrophiles sont les premières cellules du système immunitaire qui rencontrent la bactérie, cette dernière peut survivre à l'intérieur de la cellule. Le transport des *Brucella* aux tissus lymphoïdes peut être donc médié par les neutrophiles (Ko *et Splitter*, 2003).

Le LPS ; principal facteur de virulence ; joue un rôle important dans la pénétration et l'invasion de la bactérie dans les cellules de l'hôte, il altère notamment la capacité des cellules infectées à présenter l'antigène au CMH de classe II, empêchant ainsi la destruction des cellules infectées (Christopher *et al*, 2010). Il est également un faible inducteur des cytokines inflammatoires, IL-1B, IL-6 ou TNF- $\alpha$ .

L'INF $\gamma$  est une cytokine qui joue un rôle clé dans le contrôle de l'infection brucellique, l'un de ses effets majeurs est la stimulation des mécanismes destructeurs de la bactérie dans les cellules phagocytaires (*Godfroid et al, 2011*).

#### **I.5.2.1. Réponse immunitaire humorale**

La réponse sérologique apparaît dans les 2 à 4 semaines qui suivent l'infection, la production d'IgM est suivie après une semaine ou deux par la production d'IgG1 et d'IgG2 (*Anonyme(b), 2001*).

Les anticorps IgG jouent également un rôle dans l'opsonisation de la bactérie pour faciliter sa phagocytose (*Ko et Splitter, 2003*).

#### **I.5.2.2. La réponse immunitaire cellulaire**

Le rôle majeur des cellules T dans l'immunité contre l'infection brucellique est la sécrétion de l'IFN- $\gamma$ , qui active la fonction bactéricide des macrophages et l'activité cytotoxique des lymphocytes T CD8+ (*Ko et Splitter, 2003*).

### **I.5.3. Mécanismes d'échappement de Brucella au système immunitaire**

Deux mécanismes distincts permettent à la bactérie d'échapper à l'immunité innée :

- Le lipopolysaccharide possède une faible propriété endotoxique, ce qui lui permet d'échapper à la détection par les Toll-Like Receptors (TLR), présent à la surface des cellules de l'hôte.
- Brucella peut limiter la réponse inflammatoire par la production de protéines qui inhibent les voies de transduction de signaux qui activent des gènes dont les produits sont impliqués dans l'inflammation (*Xavier et al ; 2010*).

L'un des plus importants mécanismes d'échappement de Brucella est sa capacité à inhiber la fusion du phagosome-lysosome. En effet, le système de sécrétion de type IV présent chez la bactérie pourrait sécréter des effecteurs qui limiteraient la fusion des lysosomes avec la vacuole et permettraient à la bactérie de survivre (*Starr et al, 2008*).

Le glucane cyclique  $\beta$ -1,2 synthétisé par Brucella intervient également dans le contrôle de la fusion de la vacuole avec les lysosomes (*Arellano Reynoso et al, 2010*).

Divers autres éléments permettent à la bactérie de survivre à l'intérieur de la cellule hôte et d'atteindre sa niche répliquative tels que : la catalase, la superoxyde dismutase et la peroxydase

qui détoxifient les intermédiaires réactifs de l'oxygène qui endommagent les structures macromoléculaires du pathogène (*Seleem et al, 2008*).

## I.6. Epidémiologie

### I.6.1. Epidémiologie descriptive

Selon la FAO, l'OMS et l'OIE, la brucellose reste l'une des zoonoses les plus répandue dans le monde.

#### I.6.1.1. Répartition géographique

La brucellose des petits ruminants est de répartition mondiale, elle est endémique dans certain pays européens, et particulièrement dans les régions méditerranéennes, dans l'Amérique latine à l'exception du Brésil et du Chili, dans le centre et l'ouest de l'Asie, dans le Moyen Orient et en Afrique (*Megid et al, 2010*).

En 2008, 12 pays de l'Union Européenne ont été déclarés indemnes de la brucellose bovine et des petits ruminants (*Godfroid et al, 2001*).

En 2011, en Algérie, des foyers de brucellose caprine ont été déclarés aussi bien dans l'est du pays (Sétif, Mila, El oued) et dans l'ouest (Tlemcen, Ain Temouchent, Saida) que dans le sud (Ghardaïa, Béchar) (*Anonyme(d), 2011*).

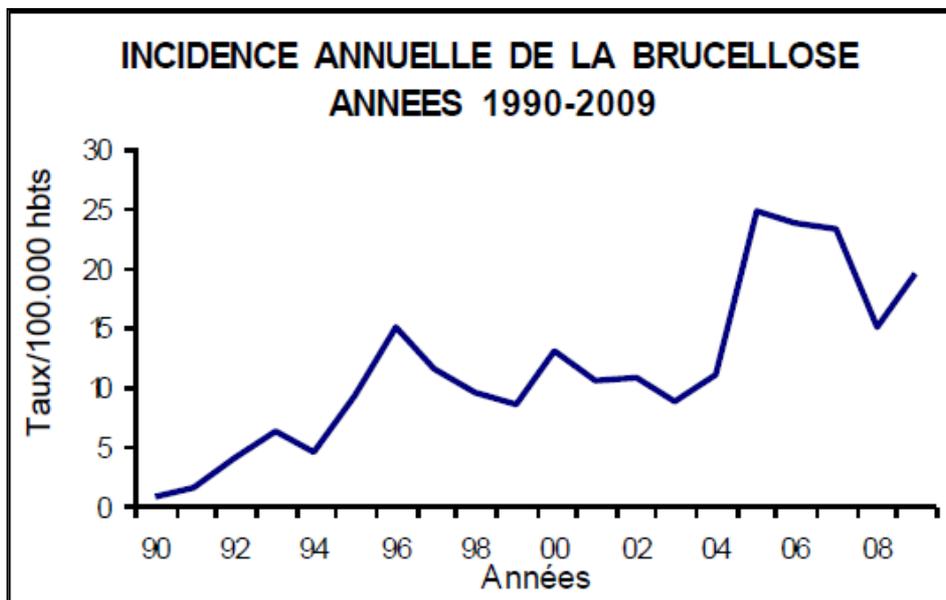
Le biovar de *Brucella melitensis* mis en cause varie avec le pays. Le biovar 1 a été isolé en Lybie, en Omane et Israël. Le biovar 2 est quant à lui retrouvé en Turquie et en Arabie Saoudite. Enfin le biovar 3 est le plus communément isolé en Egypte, en Jordanie, en Israël, en Tunisie et en Turquie (*Gul et khan, 2007*).

En Algérie, une étude menée par Boudilmi et al, a identifié des souches de *Brucella melitensis* biovar 3 (*Boudilmi et al, 1990*).

### I.6.1.2. Incidence de la brucellose animale et humaine

Dans les régions endémiques, l'incidence de la brucellose humaine varie entre un taux inférieur à 0.01 jusqu'à dépasser les 200 personnes par 100.000 habitants (*Mantur et Amarnath, 2008 ; Corbel, 1997*). Malheureusement on ne connaît pas l'incidence réelle de cette zoonose car la brucellose est souvent non diagnostiquée (polymorphisme clinique) (*Chakroun et Bouzaouaia, 2007*) ou non déclarée (*Christopher et al, 2010*).

En Algérie, la courbe de l'incidence de la brucellose humaine subit une réascension (*Figure 1*). En effet, l'incidence est passée de 14,94 cas en 2008 à 19,40 cas pour 100 000 habitants en 2009.



**Figure 1 : Incidence annuelle de la brucellose humaine de 1990 à 2009 en Algérie (INSP, 2009)**

La wilaya d'El Bayadh, de Naama, et de Béchar, ont enregistré une hausse de l'incidence de la brucellose humaine (*INSP, 2009*), elles ont été incluses dans la campagne de vaccination en 2009, 2010 et 2011 respectivement (*DSV, 2012*).

Au niveau de la wilaya de Laghouat, le taux d'incidence de la brucellose humaine a triplé, passant de 50,88 cas en 2008 à 156,15 cas par 100.000 habitants en 2009 (*INSP, 2009*), bien que cette wilaya figure parmi les wilayas concernées par la vaccination depuis 2006 (*DSV, 2012*).

La figure 2, présente l'évolution des cas de brucellose humaine déclarés sur le territoire national. Une franche augmentation du nombre de cas pour les années 2005, 2006 et 2007 est constatée, suivie par un déclin transitoire durant les deux années 2008 et 2009, pour atteindre en 2010, 8 445 cas.

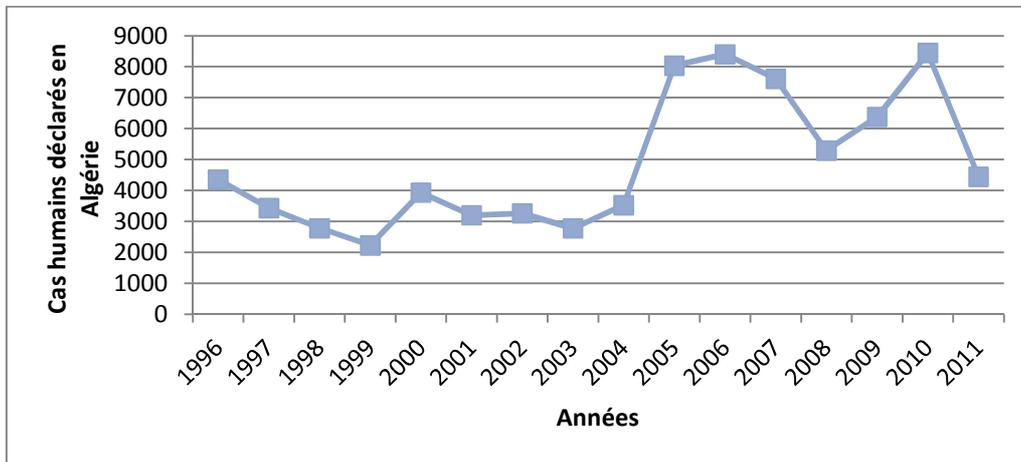
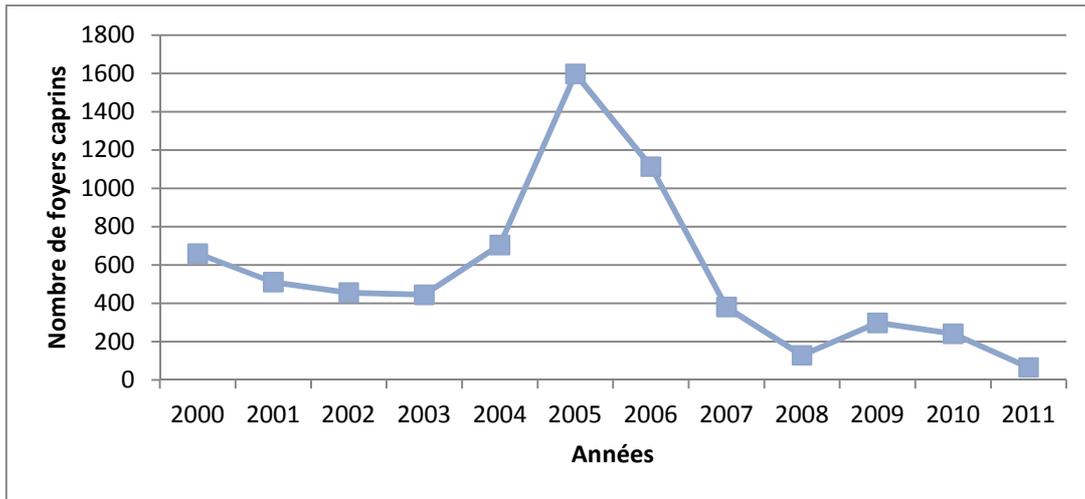


Figure 2 : Nombre de cas de brucellose humaine déclarés en Algérie

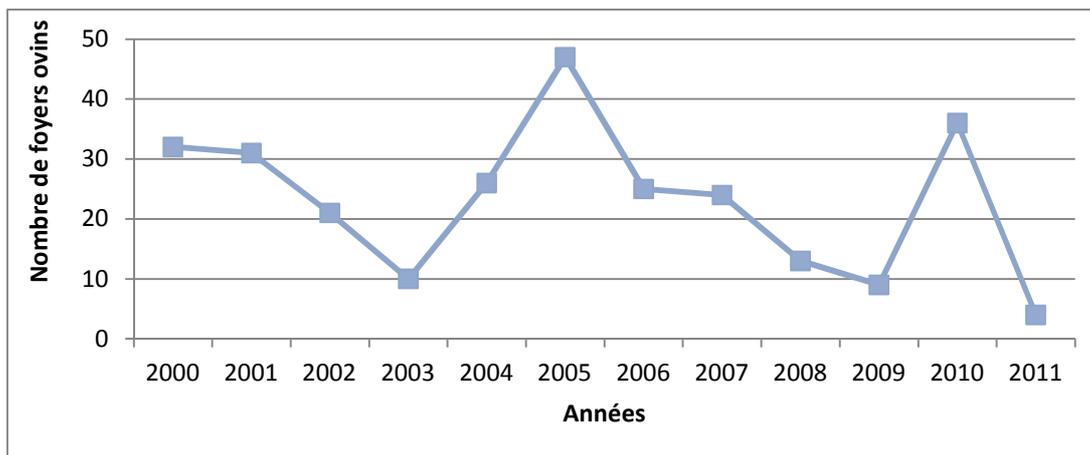
([http://web.oie.int/wahis/public.php?page=country\\_zoonoses](http://web.oie.int/wahis/public.php?page=country_zoonoses))

En Algérie, le nombre de foyers de brucellose des petits ruminants déclarés est variable selon les années. Pour les caprins, une recrudescence des foyers a été notée en 2005, pour ensuite diminuer progressivement (*Figure3*).

Concernant les ovins, un nombre élevé de foyers a été constaté en 2005, par rapport aux années précédentes, suivi par une diminution de ce chiffre entre 2006 et 2009, puis son augmentation de nouveau en 2010 (*Figure 4*) (DSV, 2012).



**Figure 3 : Nombre de foyers caprins (DSV, 2012)**



**Figure 4 : Nombre de foyers ovins (DSV, 2012)**

Il est tout de même important de préciser que ces données peuvent ne pas refléter la réalité du terrain, car le dépistage ne concerne pas l'ensemble du cheptel algérien.

## I.6.2. Epidémiologie analytique

### I.6.2.1. Sources de contagion

Les sources de contagion sont représentées par les animaux malades ou infectés (*Anonyme(a), 2004*).

Au moment de l'avortement, le placenta et son contenu sont les principales sources d'infection pour l'Homme et pour l'animal. Le liquide allantoïdien peut contenir jusqu'à  $10^{10}$  UFC/ml, et la concentration dans les cotylédons placentaires varie de  $10^{11}$  à  $10^{13}$  UFC/g (*Lefèvre et al, 2003*).

Chez la brebis, l'excrétion de *Brucella* à travers le fluide vaginal peut persister 3 à 4 semaines après l'avortement ou la parturition, tandis que chez la chèvre elle s'étend sur 2 à 3 mois (*Megid, 2010*).

Les matières virulentes (fœtus, membrane fœtales, lait, sécrétions vaginales,...); en contaminant l'environnement ; assurent la propagation de l'infection (*Picous, 2004*).

Pour l'Homme, la principale source d'infection est le lait cru et les produits laitiers, mais il est également possible que les légumes crus et l'eau contaminée par les déjections d'animaux atteints constituent des sources d'infection (*Acha et Szyfres, 2005*).

### I.6.2.2. Mode de transmission

#### ➤ Pour l'animal :

La porte d'entrée la plus courante est la voie digestive qu'empruntent les micro-organismes ingérés avec l'herbe, les aliments, le fourrage ou l'eau de boisson.

La transmission *in utero* n'est pas rare et les jeunes peuvent aussi être infectés pendant l'allaitement (*Acha et Szyfres, 2005*).

La contamination chez l'animal peut se faire également par voie sexuelle. Elle entraîne une atteinte des organes génitaux et conduit à l'avortement de la femelle gravide (*Abadia et Picu, 2005*).

➤ **Pour l'Homme :**

La transmission de la bactérie à l'Homme peut se faire par contact direct avec des animaux malades (*Avril, 1997*), elle concerne les professions ayant un contact direct avec les animaux (éleveurs, vétérinaires, employés d'abattoir) (*Nauciel et Vildé, 2005*).

Elle est souvent cutanée, parfois conjonctivale, rarement respiratoire par inhalation de poussières infectées.

La contamination accidentelle au laboratoire par voie cutanéomuqueuse, lors de la manipulation des cultures est possible (*Chakroun et Bouzaouaia, 2007*).

Toute fois la voie de contamination la plus fréquente est l'ingestion de lait, de produits laitiers et de viandes contaminés (*Smits et Cutler, 2004*).

La propagation directe de la brucellose d'un individu à un autre est extrêmement rare. Néanmoins, des nourrissons peuvent être infectés par le lait maternel. La transmission sexuelle quant à elle a déjà été signalée (Prescott et al, 2010) ainsi que la contamination lors de transfusion sanguine ou encore lors de transplantation de la moelle osseuse (*Elshamy et Ahmed, 2008*).

La pratique de la vaccination chez les animaux a pu également être une source de contamination pour les éleveurs et les vétérinaires selon certains auteurs (*Abadia et Picu, 2005*).

## **I.7. Etude clinique**

### **I.7.1. Symptômes**

#### **I.7.1.1. Chez l'animal**

La durée de l'incubation varie de 14 à 180 jours (*Lefèvre et al, 2003*). Les manifestations cliniques sont extrêmement variables mais associent :

- Une fièvre ondulante ;
- Des symptômes généraux comme une asthénie et une perte de poids ;
- Une atteinte organique disséminée ou focale (*Spicer, 2003*).

Le principal symptôme chez la femelle gestante est l'avortement (*Seleem et al, 2009*) au cours des deux derniers mois de gestations ou la naissance d'un nouveau né affaibli qui le plus souvent meurt autour du *peripartum*.

On observe également une rétention placentaire (*Megid et al, 2010*) et une mammite avec formation de nodules inflammatoires (*Anonyme(a), 2004*).

Les femelles des troupeaux dans lesquels la brucellose évolue de façon chronique ont moins tendance à avorter, la présence de la maladie se manifeste, entre autre, par la présence de cas de brucellose humaine (*Lefèvre et al, 2003*). Ces femelles représentent également un risque pour les autres animaux du cheptel (*Acha et Szyfres, 2005*).

Chez les mâles, l'infection demeure généralement inapparente, il est possible d'observer néanmoins des cas d'orchite et d'épididymite (*Anonyme(a), 2004*).

Dans la forme chronique, l'apparition d'hygroma chez le mâle et d'inflammation au niveau des articulations est possible.

Le principal impact de la maladie chez le reproducteur mâle est la production d'une semence de mauvaise qualité responsable d'une baisse de fertilité (*Megid et al, 2010*).

### **I.7.1.2. Chez l'Homme**

La période d'incubation est très variable, de 3 jours à plusieurs semaines (*Purcel et al, 2008*), avec une moyenne de un à deux mois (*Bossi et al, 2004*).

Les manifestations cliniques dépendent de la forme de la brucellose et des organes cibles (*Franco et al, 2007*). En effet, la brucellose est une infection systémique qui peut atteindre n'importe quel organe ou système (*Bossi et al, 2004*).

On peut observer une forme aiguë, focalisée ou chronique (*Abadia et Picu, 2005*).

#### **➤ La brucellose aiguë**

La forme aiguë est souvent marquée par un syndrome pseudo-grippal associant une fièvre, une asthénie, des algies diffuses et un malaise général (*Sauret et Vilissova, 2001*).

L'examen clinique peut montrer une splénomégalie, une hépatomégalie, des adénopathies cervicales et axillaires ainsi de des râles bronchiques (*Chakroun et Bouzouaia, 2007*).

L'infection chez la femme enceinte peut provoquer un avortement, une mort fœtale ou un accouchement prématuré (*Elshamy et Ahmed, 2008*).

➤ **La brucellose focalisée**

L'affection est caractérisée par l'apparition de localisations viscérales au cours de la phase aiguë ou au détour d'une brucellose aiguë non diagnostiquée ou insuffisamment traitée (*Chakroun et Bouzouaia, 2007*).

Les localisations secondaires les plus fréquentes sont ostéo-articulaires mais on peut constater également des localisations neurologiques, cardiaques et génito-urinaires.

➤ **La brucellose chronique**

Elle apparaît habituellement après un an d'évolution de l'infection, elle se caractérise par une fatigue chronique, des réactions allergiques et de signes de foyers torpides osseux, neuroméningés, hépatiques, spléniques ou rénaux (*Abadia et Picu, 2005*).

### **I.7.2. Lésions**

Les animaux infectés développent des lésions granulomateuses inflammatoires au niveau des tissus lymphoïdes et certains organes tels que les organes reproductifs, la mamelle et les ganglions mammaires et parfois les articulations et la membrane synoviale (*Anonyme(b), 2001*).

Les rétentions placentaires et les endométrites sont rares chez les brebis mais fréquentes chez les chèvres. Les lésions de l'utérus chez les femelles ayant avortées sont celles d'une métrite suppurative avec suffusions hémorragiques au niveau des cotylédons et de l'endomètre (*Lefèvre et al, 2003*).

Chez l'avorton, on peut observer une bronchopneumonie, un épanchement hémorragique dans la cavité thoracique et une hypertrophie des nœuds lymphatiques, du foie et de la rate (*Megid et al, 2010*).

## I.8 Diagnostic

### I.8.1. Diagnostic direct

#### I.8.1.1. Diagnostic bactériologique

L'isolement de l'agent étiologique est de loin la méthode la plus sûre pour le diagnostic de la brucellose (*Anonyme(b), 2001 ; Garin-Bastuji, 2005*).

Le diagnostic bactériologique peut se faire par examen microscopique d'un frottis vaginal, de placenta, ou d'avorton (*Garin-Bastuji, 1998*). La culture de la bactérie peut se faire à partir d'échantillons de semence, de lait ou de sang (*Carter et al, 1990*). Le milieu de culture le plus communément utilisé est le milieu Farell qui contient des antibiotiques qui inhibent les bactéries autres que *Brucella* qui seraient présentes dans les échantillons (*Gaudfroid et al, 2010*).

Toute fois, il est important de préciser que le milieu sélectif de Farell contient de l'acide nalidixique et de la bacitracine à une concentration qui peut avoir un effet inhibiteur sur certaines souches de *Brucella melitensis*. Sa sensibilité est ainsi parfois inférieure à celle obtenue avec le milieu Thayer-Martin. Pour cette raison, la sensibilité du diagnostic bactériologique est significativement augmentée par l'utilisation de ces deux milieux (*Anonyme(b), 2001*).

#### I.8.1.2. Diagnostic moléculaire

La culture de la bactérie est une méthode spécifique, dont la sensibilité dépend d'une part de la viabilité et du nombre des bactéries dans l'échantillon et d'autre part de la nature de l'échantillon. Le temps requis pour la culture peut être aussi très long (*Garin-Bastuji et al, 2006*). En effet, lors d'hémoculture des colonies peuvent être observées après un délai de 24 à 48 heures jusqu'à deux à trois semaines après l'ensemencement. Par voie de conséquence l'utilisation de la PCR pour identifier l'espèce ou le biovar de *Brucella* pourrait constituer une bonne alternative (*Poester et al, 2010*).

Diverses techniques de PCR ont été développées, comme celle basée sur l'identification d'une séquence spécifique de *Brucella spp*, codant pour le gène 16S-23S. Des études ont démontré que la PCR peut détecter l'ADN de *Brucella* à partir de culture pure mais aussi d'échantillon clinique (*Ilham et al, 2008*).

Cependant, ces techniques ont été validées pour des échantillons humains et non animaux, malgré des résultats prometteurs en médecine vétérinaire. (*Godfroid et al ; 2010*).

## **I.8.2. Diagnostic indirect**

### **I.8.2.1. L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT)**

Selon les recommandations de l'OMS et la FAO, l'épreuve à l'antigène tamponné au *Rose Bengale* est le test de référence pour le diagnostic de la brucellose (*Anonyme (e), 1986*). C'est un test qui est très facile à réaliser, il consiste à mélanger à part égale (25-30 µl) une suspension d'antigènes de *Brucella abortus* colorée au rose bengale avec le sérum à analyser. La lecture se fait après 4 minutes.

C'est une méthode qualitative qui est utilisée dans le diagnostic de routine de la brucellose (*Poester et al, 2010*).

Afin d'augmenter la sensibilité du test, il est recommandé d'augmenter le volume du sérum à tester à 75 µl (*Ferreira et al, 2003*).

### **I.8.2.2. L'épreuve de fixation du complément**

La fixation du complément est un test qui permet de détecter les anticorps anti-*Brucella* qui sont capables d'activer le complément (*Godfroid et al, 2010*). Sa sensibilité est certes inférieure à celle de l'EAT et à celle de l'ELISA mais il possède une spécificité élevée, par conséquent il est utilisé comme un test de confirmation aux résultats positifs obtenus par l'EAT (*Garin-Bastuji et al, 2006*).

Le test de fixation du complément est un test qui requiert un certain nombre de réactifs qui doivent être titrés régulièrement. De plus, il s'agit d'une technique assez compliquée et demandant plus de temps comparativement aux autres tests sérologiques. Enfin, elle s'avère financièrement plus coûteuse que l'EAT (*Nielsen et al, 2010*).

### I.8.2.3. Test immuno-enzymatique

Différentes techniques d'ELISA ont été décrites en employant différents antigènes, des enzymes de conjugaison mais aussi des substrats. Il existe également plusieurs kits commerciaux disponibles mais aucune procédure n'a été standardisée pour être utilisée comme test de référence (*Anonyme(f), 2008*) malgré l'existence de plusieurs études dans ce sens.

*Jaques et al (1998)*, suggèrent que l'ELISA indirect standardisé pourrait être un bon test de dépistage lorsqu'il est utilisé seul ou en association avec l'EAT.

Gupta et al (2010) ont, quant à eux, étudié la possibilité d'utiliser la protéine recombinante de membrane BP26 comme antigène pour le diagnostic de la brucellose avec la technique ELISA. Cette technique serait plus sensible et plus spécifique que les tests de dépistage utilisés et permettrait si toute fois elle était standardisée de diminuer le taux des faux négatifs lors des enquêtes épidémiologiques. La protéine BP26 a également fait l'objet d'une étude avec l'ELISA de compétition (*Alj-Debbarh et al, 1996*). Cette technique peut être utilisée comme une technique alternative à la fixation du complément pour le diagnostic de la brucellose des petits ruminants (*Minas et al, 2007*).

### I.8.3. Autres tests

Il existe d'autres tests pour le diagnostic de la brucellose comme le test de fluorescence qui mesure l'interaction antigène - anticorps (*Anonyme(f), 2008*) ou encore le test de la brucelline qui mesure la réaction inflammatoire locale après l'inoculation d'un brucellagène (*Blasco et al, 1994*).

## I.9. Traitement

Le traitement de la brucellose chez l'Homme repose essentiellement sur une antibiothérapie. Les antibiotiques doivent avoir une bonne diffusion intracellulaire et une activité conservée en extracellulaire (*Chakroun et Bouzouaia, 2007*).

Depuis 1986, l'OMS recommande l'administration de la doxycycline et de la rifampicine durant 6 semaines, associée à la streptomycine durant 2 ou 3 semaines (*Pappas et al, 2005*).

Une association de quinolones et de rifampicine semble être aussi efficace (*Corbel, 1997*).

## *Chapitre II*

**«Stratégies de contrôle  
et d'éradication de la  
brucellose des petits  
ruminants»**

## II. Stratégies de contrôle et d'éradication de la brucellose des petits ruminants

### II.1. Détermination de la stratégie de lutte

La brucellose est une maladie hautement contagieuse, dont l'impact économique sur le développement des industries animales est considérable. Considérée comme la zoonose la plus répandue dans le monde, elle représente une menace sérieuse pour la santé humaine. (*Benkirane, 2007*).

Par conséquent, la mise en place des programmes de lutte contre la brucellose animale constitue non seulement une composante très importante mais également incontournable de la lutte contre la brucellose humaine (*Blasco, 2005*).

La première étape dans le choix du programme de lutte contre la brucellose est l'identification claire et précise de l'objectif à atteindre, il va de soit que l'éradication ne peut pas être l'objectif premier pour un pays fortement endémique à la brucellose (*Anonyme(g), 2003*) mais un contrôle de la maladie semble être plus raisonnable dans un premier temps.

La situation épidémiologique de la maladie doit être parfaitement étudiée et les différents services vétérinaires et administratifs impliqués clairement identifiés (*Anonyme(h), 2011*).

#### II.1.2. Critères pour le choix d'une stratégie de lutte

Le choix d'une stratégie dépend d'un certain nombre de considérations (*Figure 5*), parmi les quelles on peut citer :

- La présence ou l'absence d'organisation des services vétérinaires et leur capacité à assurer le suivi permanent de l'état de la maladie et à contrôler les mouvements du bétail ;
- Les ressources financières disponibles et la capacité de mobilisation des ressources supplémentaires (*Blasco, 2010*) ;

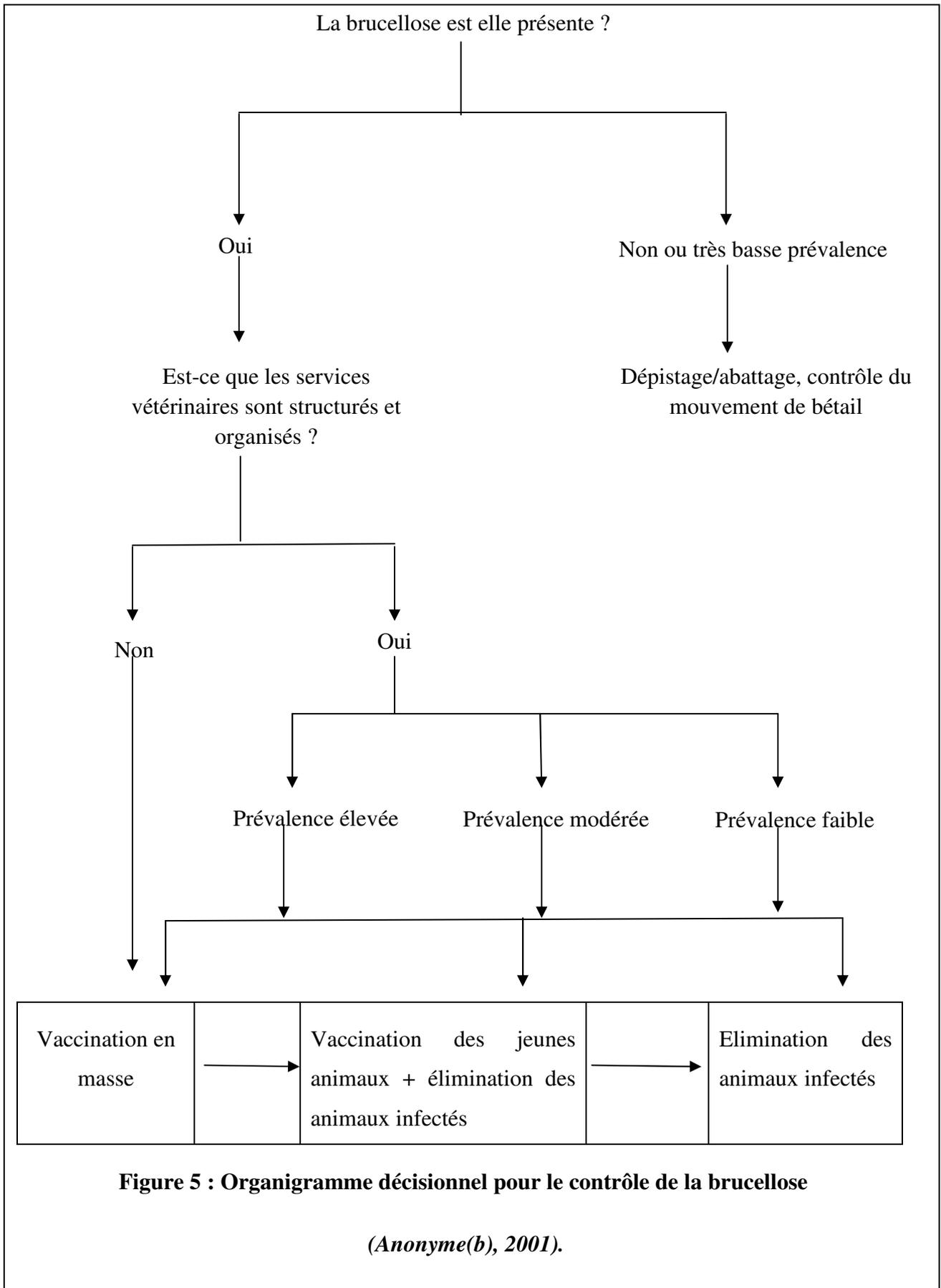
*Le budget octroyé au programme doit inclure : le coût du vaccin, celui de l'identification des animaux de chaque cheptel, les frais des vétérinaires pour l'acte vaccinal, sans oublier l'indemnisation des éleveurs en cas d'abattage de leurs animaux reconnus séropositifs (Anonyme(i), 2009) ;*

- La participation la plus large possible des éleveurs qui doivent être convaincus avant le lancement d'un programme de lutte contre la maladie de l'intérêt de cette entreprise (*Blasco, 2010*) ;
- La prévalence de la maladie chez les espèces animales et chez l'Homme au moment du démarrage du programme ;
- La structure des élevages et leur mode de conduite (*Benkirane, 2001*).

### II.1.3. les stratégies de lutte

Diverses stratégies ont été adoptées séparément ou conjointement pour le contrôle puis l'éradication de la brucellose animale. Les différentes possibilités sont :

- La vaccination généralisée de toute la population animale réceptive ;
- Une combinaison de l'abattage des animaux reconnus atteints et de la vaccination sélective limitée à un groupe d'âge donné ou une zone du pays ;
- L'abattage sanitaire seul : notons que cette stratégie n'a jamais été appliquée à la brucellose des petits ruminants dans les pays d'Afrique du nord (*Nicoletti, 2010*).



**Figure 5 : Organigramme décisionnel pour le contrôle de la brucellose**

*(Anonyme(b), 2001).*

### II.1.3.1. Vaccination généralisée de tout le cheptel

La vaccination généralisée de la population animale est la stratégie la plus adéquate dans les régions où la prévalence de la brucellose est très importante (>10%) (*Anonyme(i), 2009*). Elle réduit l'incidence de la maladie et son risque de dissémination (*Nicoletti, 2010*).

Initialement, la vaccination exclusive des animaux de remplacement chaque année durant 5-6 ans (durée de la vie reproductive des ovins et caprins) était supposée suffisante (*Anonyme(g), 2003*). Cependant, dans plusieurs pays où les animaux sont en élevage extensif et en système nomade, cette approche n'a pas permis de réduire la prévalence car le développement de l'immunité du troupeau était très lent (*Anonyme(b), 2001*).

En Algérie l'arrêté interministériel du 13 juin 2005 (*cf Annexe II*) a rendu obligatoire la vaccination contre la brucellose des espèces ovines et caprines dans les zones qui sont définies par décision de l'autorité vétérinaire.

Les wilayas du pays concernées par la vaccination contre la Brucellose en se basant sur le taux de prévalence sont :

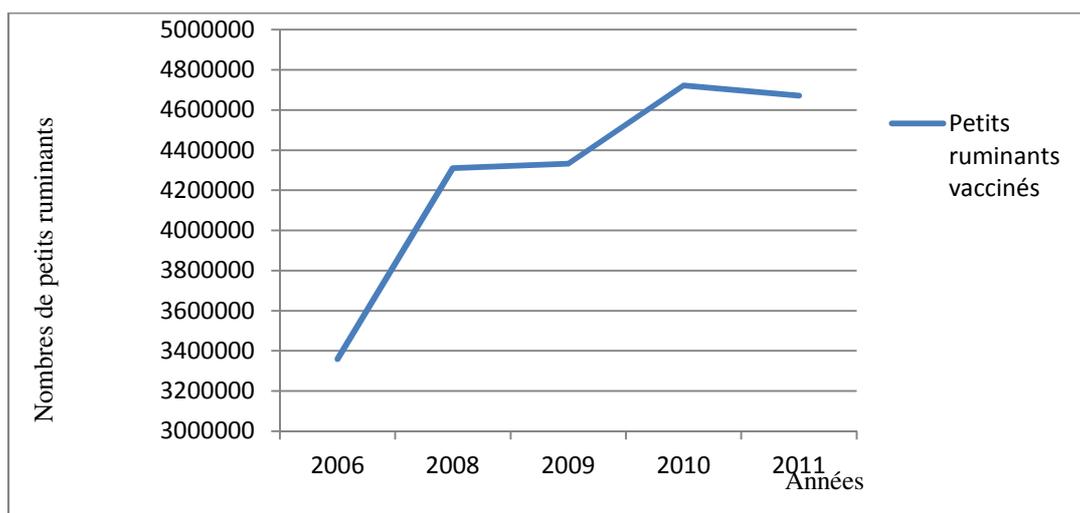
- De 2006 jusqu'à 2008 : Oum El Bouaghi, Laghouat, Batna, Biskra, Tébessa, Djelfa, Khenchla, M'sila, Ghardaïa, Médéa et Tiaret.

Par la suite, le programme de vaccination a été étendu annuellement à autres wilayas :

- En 2009 : Saida et El Bayadh
- En 2010 : Tlemcen, Naama, Souk Ahras, Sidi Belabbas, El Oued et Tissemsilt ;
- En 2011 : Bechar, Rélizane et Ain Defla.
- En 2012 : Mascara, Ain Témouchent.

Depuis 2006, plus de 21 million de petits ruminants ont été vaccinés selon la direction des services vétérinaires (*Figure 6*).

Le vaccin utilisé actuellement lors des campagnes de vaccination est le vaccin *Coglarev® souche Rev1* commercialisé par la firme CEVA Santé Animale.



**Figure 6 : Evolution de l'effectif vacciné depuis le début de la campagne de vaccination (DSV, 2012).**

### **II.1.3.2. Dépistage des animaux adultes et vaccination des animaux de remplacement**

Dans les régions où la prévalence est modérée (environ 5%) et les structures vétérinaires bien organisées, le programme de lutte contre la brucellose consiste en une association de prophylaxie médicale et sanitaire (*Anonyme(i), 2009*).

Cette stratégie est basée sur l'abattage des animaux adultes séropositifs et la vaccination des jeunes animaux de remplacement (3-4 mois).

La réussite de ce type de programme nécessite notamment une identification individuelle de chaque animal, ce qui n'est pas toujours évident à réaliser (*Blasco, 2010*).

### **II.1.3.3. Eradication de la maladie par un dépistage/abattage des animaux atteints**

Ce programme est appliqué dans les pays ou régions dans lesquels la phase d'éradication est entamée, la prévalence troupeaux doit être <1%, et il convient de s'assurer de la disponibilité des structures et des ressources matérielles et humaines nécessaires à la réussite du programme. La vaccination doit être prohibée et un contrôle sanitaire strict doit être effectué à l'intérieur du pays ainsi qu'au niveau des frontières (*Benkirane, 2001*).

**Tableau I : Tableau récapitulatif des avantages et inconvénients de chaque stratégie de lutte**

Stratégies	Avantages	Inconvénients
Vaccination de masse	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Réduit l'impact zoonotique</li> <li>-L'immunité du troupeau est rapidement établie</li> <li>-Contrôle de la maladie efficace et réduction des pertes dues à la maladie</li> <li>-Bien acceptée par les éleveurs</li> <li>-Facile à diriger et économique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Le vaccin induit l'avortement chez les femelles gestantes</li> <li>-la distinction entre les animaux infectés et vaccinés n'est pas possible</li> </ul>
Vaccination des jeunes animaux et dépistage/abatage des adultes infectés	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Minimise les avortements dus au vaccin</li> <li>-Permet le dépistage des animaux non vaccinés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-L'immunité du troupeau est établie lentement.</li> <li>-Les animaux vaccinés ne peuvent pas être dépistés</li> </ul>
Dépistage des animaux et abatage des infectés	Permet l'élimination de la maladie de la région	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Risque d'infection humaine</li> <li>-Coût élevé du programme</li> <li>-Les services vétérinaires doivent être efficaces.</li> <li>-Ne peut être appliquée que si la prévalence est basse</li> </ul>

(Anonyme(b), 2001).

## II.2. Qualification d'un pays indemne de brucellose

Du fait de l'existence d'un historique vaccinal dans certaines régions, la réglementation distingue des cheptels officiellement indemnes (qualifiés à l'issue de deux séries d'analyses pratiquées au moins deux ans après l'arrêt de la vaccination) et des cheptels indemnes (qualifiés à l'issue de deux séries d'analyses dans les cheptels vaccinés ou moins de deux ans après l'arrêt de la vaccination) (*Fediaevsky et al, 2009*).

## **II.2.1. Qualification d'un pays ou zone officiellement indemne**

### **II.2.1.1. Qualification**

Selon les directives de l'OIE dans le code sanitaire pour les animaux terrestres, pour être reconnu officiellement indemne de brucellose caprine et ovine, un pays ou une zone doit satisfaire aux conditions suivantes :

- Toute constatation et toute suspicion de brucellose caprine et ovine doivent être à déclaration obligatoire depuis 5 ans au moins ;
- Tous les cheptels ovins et caprins doivent être placés sous contrôle vétérinaire officiel ;
- 99,8% des cheptels ovins et caprins doivent être reconnus officiellement indemnes de brucellose ;
- Aucun cas de brucellose caprine ou ovine ne doit y avoir été déclaré depuis 5 ans au moins, et la vaccination doit y être interdite depuis 3 ans au moins.

### **II.2.1.2. Maintien de la qualification**

Afin de maintenir à un pays ou une zone sa qualification officiellement indemne de brucellose caprine et ovine, une enquête sérologique doit être réalisée chaque année dans les exploitations ou les abattoirs sur un échantillon représentatif des cheptels ovins et caprins, de façon à détecter avec une probabilité d'au moins 99% la brucellose si elle était présente avec un taux de prévalence des cheptels supérieur à 2%

## **II 2.2. Qualification d'un cheptel officiellement indemne de brucellose**

### **II.2.2.1. Qualification**

Pour être reconnu officiellement indemne de brucellose caprine et ovine, un cheptel ovin ou caprin doit satisfaire aux conditions suivantes :

- Il doit être placé sous contrôle vétérinaire officiel ;
- Aucun signe clinique, bactériologique ou immunologique de brucellose caprine et ovine ne doit y avoir été constaté depuis un an au moins ;

- Il ne doit comporter que des ovins ou caprins non vaccinés contre la brucellose ou des animaux identifiés de façon permanente et vaccinés depuis 2 ans au moins,
- Tous les ovins et caprins âgés de plus de 6 mois le jour du prélèvement doivent avoir été soumis à deux épreuves diagnostiques dont les résultats doivent s'être révélés négatifs et doivent avoir été effectuées à au moins 6 mois et au plus 12 mois d'intervalle ;

#### II.2.2.2. Maintien de la qualification

Afin de maintenir à un cheptel sa qualification officiellement indemne de brucellose, un échantillon des animaux qu'il comporte doit être soumis, chaque année, à une épreuve diagnostique dont le résultat doit s'avérer négatif.

Pour un cheptel comportant jusqu'à 1 000 animaux, l'échantillon doit inclure :

- Tous les animaux mâles non castrés âgés de plus de 6 mois ;
- Tous les animaux introduits dans le cheptel depuis le contrôle précédent ;
- 25% des femelles pubères, sans que leur nombre puisse être inférieur à 50, sauf si le cheptel en comporte moins, auquel cas elles doivent toutes faire partie de l'échantillon.

Pour un cheptel comportant plus de 1 000 animaux, une enquête sérologique doit être réalisée chaque année sur un échantillon représentatif, de façon à détecter avec une probabilité de 99% la brucellose caprine et ovine, si elle était présente avec un taux de prévalence supérieur à 0,2% (*Anonyme(m), 2008*).

### II.3. Le vaccin Rev1

#### II.3.1. Le vaccin *Brucella melitensis* souche Rev1

Les vaccins vivants ont prouvé leur supériorité par rapport aux vaccins inactivés pour la brucellose animal : ils sont efficaces, peu coûteux et procurent une immunité durable (*Anonyme(j), 1997*).

La quête d'un vaccin efficace contre la brucellose a débuté presque simultanément avec la caractérisation de la maladie en tant que zoonose. C'est en effet, au milieu des années cinquante que le Dr Elberg et le Dr Herzberg ont développé la souche vaccinale Rev1 de *Brucella melitensis* (Banai, 2002). La souche Rev1 est une souche lisse atténuée de *B. melitensis*, il s'agit d'un clone non dépendant de la streptomycine isolé à partir d'une population streptomycine dépendante. (Anonyme(k), 1997). Le vaccin est une suspension lyophilisée qui contient pas moins de  $0,5 \cdot 10^9$  UFC et pas plus de  $4 \cdot 10^9$  UFC par dose (Anonyme(l), 2005).

Contrairement à la souche sauvage, la souche Rev1 est résistante à 2,5 ug/ml de streptomycine et susceptible à 5 IU de pénicilline G, ce qui permet une distinction claire entre la souche virulente et la souche Rev1 (Banai, 2002).

Plusieurs laboratoires pharmaceutiques ont commercialisé le vaccin *B. melitensis* souche Rev1. Nous pouvons citer : le vaccin Ovirev® commercialisé par le laboratoire Vétoquinol, le vaccin Brucevac® commercialisé par JOVAC et le vaccin Lio Vac® Rev-1 commercialisé par Syva. En Algérie, le vaccin utilisé actuellement lors des campagnes de vaccination est le Coglarev® souche Rev1 commercialisé par CEVA Santé Animale (cf notice ci-dessous).

**Forme pharmaceutique et présentations :**

Flacon de 50 doses+solvant en verre de 1,6ml+compte goutte en plastique.

**Principe actif :**

*Brucella melitensis* (souche Rev1) :  $1-2 \cdot 10^9$  bactéries/dose

Origine de la souche de production : OIE (AFSSA) souche Elberg mutante de *B. melitensis* biovar1 résistante à la streptomycine

**Posologie** : une seule administration (sans rappel) par voie conjonctivale.

**Espèces cible** : ovins-caprins. L'âge recommandé se situe entre 3 et 5 mois

**Contre indications** : ne pas vacciner les femelles gestantes ou en lactation et durant le mois précédent la lutte

### II.3.2. Doses et voies d'administration du vaccin Rev1

L'efficacité du vaccin *B.melitensis* souche Rev1 a été prouvée contre la brucellose des petits ruminants (*Zundel et al, 1992*). Cependant étant un vaccin vivant, il possède un pouvoir pathogène résiduel qui peut induire l'avortement chez les femelles gestantes et son excrétion dans le lait (*Le Moine, 2009*).

L'administration du vaccin à la dose standard de  $1-2 \times 10^9$  UFC par voie sous cutanée confère certes une immunité solide mais également une réponse sérologique durable qui interfère avec les tests de dépistage (*Lubroth et al, 2007*). Cet inconvénient ne pose pas de problème quand l'éradication n'est pas l'objectif du programme de lutte et que le but recherché est seulement dans un premier temps le contrôle de la maladie et l'induction d'un niveau élevé d'immunité dans les élevages (*Blasco, 2005*).

Dans la perspective de palier à ces problèmes plusieurs protocoles de vaccination ont été étudiés. *Delgado et al (1995)*, ont comparé les résultats obtenus avec 4 groupes d'animaux vaccinés selon des modalités différentes : dose standard en sous cutanée et par voie conjonctivale, et dose réduite en sous cutanée et par voie conjonctivale. Les résultats obtenus ont montré que la réponse sérologique était plus importante et persistante chez les animaux vaccinés par voie sous cutanée et avec la dose standard, mais également que le taux d'avortement était plus important dans ces groupes d'animaux (*Delgado et al, 1995*). De plus, la souche Rev1 a été isolée à partir des pertes vaginales d'un nombre significativement plus important de brebis vaccinées par voie sous cutanée que de brebis vaccinées par voie conjonctivale (*Jiménez de Bagués, 1989*).

Il faut savoir que le taux d'avortement dépend principalement du stade de gestation au moment de la vaccination. En effet, le pourcentage d'avortement obtenu quand les femelles sont vaccinées durant le dernier mois de gestation est significativement plus bas que lorsque la vaccination est pratiquée à deux mois de gestation (*Anonyme(b), 2001*).

*NB : Selon Svetlana et al, le vaccin B.melitensis souche Rev1 pourrait être une source d'infection pour l'Homme (Svetlana et al, 2002). Une étude menée en Iran a également avancé cette possibilité, et des bovins vivants confinés avec des ovins vaccinés pouvaient être infectés et excréter la souche Rev1 de B. melitensis (Pishva et Salehi, 2008).*

Tableau II : Etude des effets des différentes voies d'administration du vaccin Rev1

Jours de gestation au moment de la vaccination	55 jours		120 jours	
	Sous cutanée	Conjonctivale	Sous cutanée	Conjonctivale
Voie de vaccination				
Excrétion du rev1	81,2%	41,2%	91%	22,2%
Brebis ayant avorté	68,7%	11,7%	9,1%	0%

(Anonyme(j), 1997)

#### II.4. La manipulation du vaccin et son utilisation sur le terrain

Le vaccin Rev1 peut être une source d'infection pour l'Homme, il est donc nécessaire de le manipuler avec certaines précautions (Anonyme(b), 2001). Le port des lunettes de protection et de gants est nécessaire afin d'éviter une contamination accidentelle.

Comme tout vaccin vivant, il doit être transporté dans une glacière afin de maintenir la chaîne de froid et conserver ainsi son pouvoir immunogène.

La vaccination doit être faite avant la mise à la reproduction afin d'éviter les conséquences du pouvoir pathogène résiduel de la souche sur les animaux gestants.

La solution vaccinale doit être reconstituée et le compte goutte adapté sur le flacon, une seule administration d'une goutte par animal par voie conjonctivale est nécessaire (Le Moine, 2009).

#### II.5. les vaccins en cours de développement

##### II.5.1. Les vaccins rugueux

Le vaccin *B. melitensis* souche Rev1 est un vaccin efficace mais qui présente des inconvénients qui interfèrent avec les programmes d'éradication du fait qu'il induit la production d'anticorps contre le O-polysaccharide du lipopolysaccharide et donc ne permet pas la distinction des animaux vaccinés des animaux infectés.

Les souches mutantes rugueuses ne possédant pas de O-polysaccharide peuvent être une alternative pour palier à cet inconvénient à condition de susciter une immunité protectrice (*Moriyon et al, 2003*).

Le vaccin *B.abortus* souche RB51 est un vaccin rugueux génétiquement stable mais dont l'efficacité contre *B.melitensis* n'est pas suffisante et non équivalente au vaccin Rev1 (*Barrio et al, 2008*).

De plus, cette souche vaccinale est résistante à la rifampicine, Or, cet antibiotique associé à la doxycycline est le traitement en cas de contamination humaine qui certes reste rare (mais déjà décrite). De ce fait, l'utilisation du vaccin RB51 en remplacement du vaccin Rev1 n'est toujours pas d'actualité (*Martin et al, 2012*).

### **II.5.2. Les vaccins à ADN**

Le principe des vaccins à ADN est l'incorporation d'un gène codant pour une protéine antigénique induisant une réponse immunitaire protectrice à un vecteur d'expression plasmidique qui a la capacité d'exprimer et de répliquer la protéine (*Metidjna, 2006*).

Pour la brucellose, il existe un nombre limité d'études qui ont utilisé la technologie des vaccins à ADN. Ces vaccins ont démontré quelques résultats prometteurs chez la souris en induisant une réponse immunitaire mais qui n'était pas assez protectrice (*Schurig et al, 2002*).

*Commander et al (2007)*, ont mené une étude sur les vaccins à ADN et ont pu obtenir pour la première fois une protection suffisamment importante en utilisant l'antigène Omp25 et l'antigène p-ialB.

# *Chapitre III*

## *«Partie expérimentale»*

## III. PARTIE EXPERIMENTALE

### III.1. Objectif

La campagne de vaccination contre la brucellose des petits ruminants a débuté en 2006, en application de l'arrêté du 13 juin 2005 paru dans le journal officiel N°72 du 20-11-2005. Elle a concerné, dans un premier temps, onze wilayas pour être étendue les années suivantes à de nouvelles wilayas, pour lesquelles a été constatée une prévalence de la brucellose élevée. Le nombre de sujets vaccinés par campagne s'est ainsi accru annuellement pour passer de 3359 259 têtes vaccinées en 2006 à 4 310 286 en 2008, 4 332 658 en 2009, 4 722 506 en 2010 et enfin 4 672 098 en 2011. Ce qui donne un total de plus de vingt et un millions de petits ruminants vaccinés depuis le début du programme de vaccination systématique contre la brucellose.

Le vaccin Coglarev® souche Rev1 commercialisé par CEVA Santé Animale a été l'unique vaccin utilisé durant toutes ces campagnes de vaccination. Néanmoins, il n'existe actuellement aucune donnée ni étude réalisée sur l'efficacité vaccinale de ce vaccin sur le cheptel algérien.

L'objectif de cette étude a été par conséquent d'évaluer l'efficacité du vaccin Coglarev® souche Rev1, utilisé dans les campagnes de vaccination anti-brucellique dans le cheptel algérien depuis 2006.

Pour ce faire, un dépistage de la brucellose de tous les animaux prélevés a été réalisé, dans un premier temps, en utilisant le test de référence recommandé par l'OIE qui est l'épreuve à l'antigène tamponné au Rose Bengale, suivi par une évaluation sérologique des titres vaccinaux par ELISA, dans un second temps.

L'analyse des prélèvements sanguins a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche « Santé & Productions Animales » de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

De plus, sachant qu'un programme de lutte contre la brucellose ne peut être mené avec succès sans l'implication active des vétérinaires, un questionnaire leur a été distribué, afin de faire le point sur leur perception de cette campagne et leur connaissance du vaccin qu'ils administrent

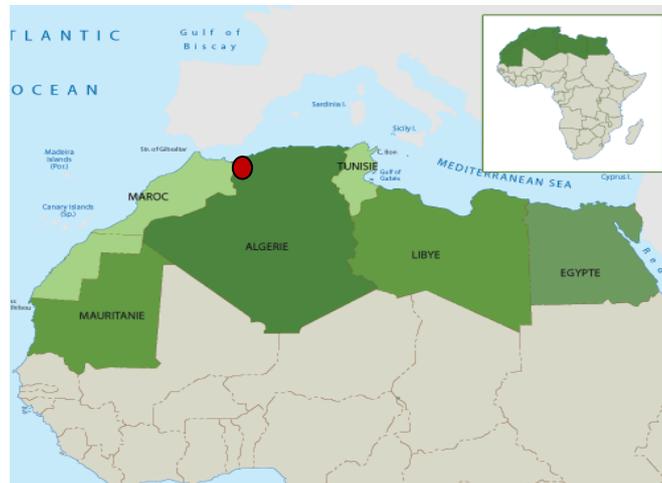
## III.2. Matériels et méthodes

### III.2.1. Matériels

#### III.2.1.1. Région de l'étude

L'étude a été réalisée au niveau de la wilaya de Tlemcen (Latitude : 34.87, Longitude :-1.31) située dans l'Ouest algérien (**Figure 7**), elle est limitée au nord par la mer méditerranée, au sud par la wilaya de Naâma, à l'est par la wilaya de Temouchent et Sidi-Belabbes et enfin à l'ouest par une zone frontalière avec le Maroc.

La présente étude a concerné les quatre daïras de Remchi, Maghnia, Nedroma et Ouled el Mimoun (**Figure 8**).



**Figure 7: Localisation géographique de la Wilaya de Tlemcen**

Le choix de la wilaya a été motivé en tout premier lieu par la présence dans la région de cheptels naïfs de toute vaccination anti-brucellique dans la mesure où cette wilaya n'a été incluse dans le programme de la campagne de vaccination qu'en 2010.

De plus, la wilaya de Tlemcen est une région pastorale, dans laquelle les élevages sont en mode semi extensif à extensif comme dans la plupart des autres wilayas concernées par les campagnes de vaccination anti-brucelliques. Enfin, la collaboration des autorités vétérinaires locales, l'accessibilité des élevages et la possibilité de suivi des élevages, ont été des arguments supplémentaires en faveur de ce choix

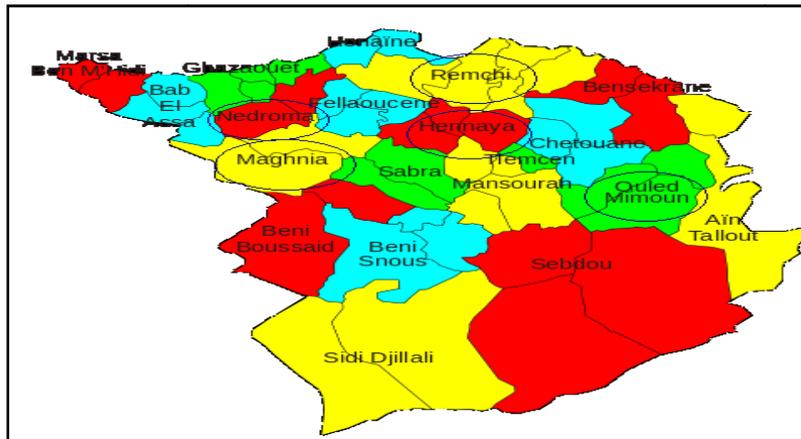


Figure 8: Situation géographique des daïras retenues dans l'étude

### III.2.1.2. Durée de l'étude

L'étude a été menée sur une durée totale de sept mois (du 29 mars 2011 au 15 octobre 2011) avec la collaboration de la Direction des Services Agricoles de Tlemcen.

Une fiche descriptive a été établie pour chaque élevage, dans laquelle ont été reportés notamment le mode d'élevage, les antécédents d'avortements, la présence éventuelle de cas de brucellose dans les élevages voisins, l'introduction ou non de nouveaux animaux (*cf. Fiche complète en annexe III*).

### III.2.1.3. Population étudiée

L'étude a porté sur un effectif total de 424 ovins (de race Ouled Djellal et Rembi) et 78 caprins (*Tableau III*), indemnes de toute vaccination anti-brucellique, issus des sept élevages différents : deux élevages dans la daïra de Remchi, trois élevages dans la daïra de Nedroma, un élevage dans la daïra de Maghnia et enfin un élevage dans la daïra de Ouled Mimoun.

Tableau III : Répartition des sujets prélevés

Espèce		Sexe		Age	
Ovin	Caprin	Femelle	Male	Jeune	Adulte
424	78	362	140	300	202

Chaque animal prélevé et vacciné a été identifié par une boucle portant un numéro. L'âge et le sexe ont été rapportés sur un tableau pour chaque élevage. (*cf. annexe IV*).

**Etat sanitaire et antécédents** : sur les sept élevages étudiés, des antécédents d'avortements ont été rapportés dans trois d'entre eux et seul un élevage présentait des cas de gale.

Les cheptels de quatre élevages ont reçu un traitement antiparasitaire environ un mois avant la vaccination.

**Mode d'élevage** : intensif (Remchi) et mode extensif (Maghnia, Nedroma et Ouled Mimoun).

**Alimentation** : Principalement basée sur le pâturage.

En raison du coût élevé des réactifs et de leur indisponibilité, seule la réponse sérologique de 166 ovins (*Tableau IV*) a pu être étudiée pour l'instant.

**Tableau IV: Répartition des ovins analysés en fonction du sexe et de l'âge**

Sexe		Age	
Femelle	Male	Jeune (<1 an)	Adulte (> 1 an)
103	63	91	75

#### III.2.1.4. Vaccin utilisé

Le vaccin utilisé lors des campagnes de vaccination contre la brucellose des petits ruminants est le vaccin Coglarev® souche Rev1 commercialisé par la firme pharmaceutique CEVA Santé Animale. Il s'agit d'un vaccin vivant atténué, administré par voie conjonctivale sans rappel. Ce vaccin est contre indiqué chez les femelles gestantes ou en lactation (*cf Notice complète en annexe V*).

### III.2.1.5. Matériels utilisé

- **Consommables**

- Tubes secs sous vide Vacutainer® ;
- Aiguilles Vacutainer® 21G ;
- Gants ;
- Alcool ;
- Boucles d'identification.
- Tubes secs de 5 ml ;
- Embouts bleus pour micropipette ;
- Embouts jaunes pour micropipette ;
- Papier absorbant ;
- Microplaques pour réaction d'agglutination ;

- **Réactifs**

- Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect (Synbiotics) ;
- Réactifs Bengatest® (Synbiotics) ;
- Eau distillée ;
- Sérum positif de contrôle ;
- Sérum à analyser.

- **Petits Matériels**

- Porte tubes à essai ;
- Micropipette de 1000 µl ;
- Micropipette de 100µl ;
- Micropipette multicanaux de 100µl ;
- Eprouvette graduée de 100 ml ;
- Bécher gradué de 25 ml ;
- Pipette graduée de 10 ml et propipette ;
- Centrifugeuse (HERAEUS LABOFUGE 200®)
- Bascule (Mettler®) ;
- Etuve (Mettler®) ;

- Lecteur automatique de microplaque (Bio-Teck®).

### III.2.2 Méthodes

#### III.2.2.1. Prélèvements

Un premier prélèvement sanguin a été effectué sur chaque animal avant la vaccination (J0) afin d'en vérifier le statut brucellique et confirmer l'absence d'anticorps anti-brucella. Trois autres séries de prélèvements ont été effectués : 30 jours, 60 jours et 180 jours après (*Tableau V*).

**Tableau V : Chronologie des prélèvements effectués et nombre de sujets prélevés**

Jours post vaccination	Nombres d'animaux prélevés
0	502
30	166
60	166
180	44

Les prélèvements du sang veineux ont été réalisés au niveau de la veine jugulaire après désinfection rigoureuse en s'assurant d'une bonne contention de l'animal par l'éleveur.

Les prélèvements clairement numérotés et identifiés ont ensuite été transportés au laboratoire sous couvert du froid dans une glacière munie de pain de glace.

Une fois au laboratoire, les prélèvements ont été centrifugés à 2 500 tours pendant 5 minutes.

Le sérum délicatement recueilli a été aliquoté dans des tubes secs de 5 ml sur lesquels un code comportant les numéros de l'élevage et de l'animal prélevé a été annoté.

Les sérums ont été ensuite immédiatement congelés à -20° C, jusqu'au jour de leur analyse.

#### III.2.2.2. Vaccination

La vaccination par le Coglarev®souche Rev1 de l'ensemble des animaux a été effectuée par voie oculaire en déposant une goutte du vaccin dans le sac conjonctival de l'œil de l'animal.

### III.2.2.3. Epreuve à l'antigène tamponné

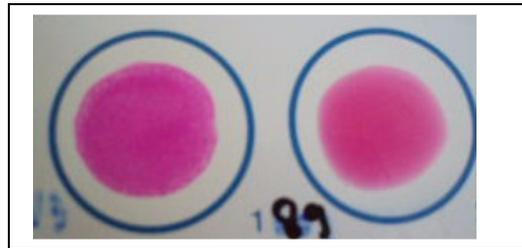
Le dépistage de la brucellose de tous les animaux prélevés (502) a été réalisé par l'épreuve à l'Antigène Tamponné au Rose Bengale, test de référence recommandé par l'OIE. Ce test devait permettre de confirmer l'absence d'anticorps anti-brucellique chez les sujets de l'étude avant la vaccination.

Les sérums ont été décongelés à température ambiante, le réactif a été, quant à lui, amené à température ambiante 30 minutes avant le début des analyses.

Sur une plaque d'agglutination, 30 µl de sérum positif de contrôle ont été déposés avec une quantité équivalente du réactif Bengatest® (Synbiotics). Un volume identique de 30 µl de chaque sérum à analyser a été déposé avec le réactif en même quantité dans les autres puits.

Après avoir mélangé à l'aide d'une petite baguette, la plaque a été déposée sur une bascule afin de bien homogénéiser. La lecture a été effectuée au bout de 4 minutes.

L'absence d'agglutination indique un résultat négatif, tandis que la présence d'agglutination indique la présence d'anticorps anti-brucellique et donc un résultat positif (**Figure 9**).



**Figure 9 : Résultat de l'EAT** (photo personnelle)  
Présence d'agglutination (à gauche) ; Absence d'agglutination (à droite)

### III.2.2.4. Technique ELISA

- **Principe**

La réponse sérologique à la vaccination a été analysée par la technique ELISA indirecte (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), test immuno-enzymatique dans lequel l'antigène (LPS) contre lequel l'anticorps recherché est dirigé, est fixé sur une phase solide, un second anticorps (anti-IgG de ruminant) de détection couplé à une enzyme peroxydase va se fixer au complexe Ag-Ac, la révélation est possible par l'ajout d'un substrat chromogène qui est converti en un signal fluorescent grâce à la peroxydase.

La sensibilité et la spécificité de la technique ELISA ont été étudiées lors de divers essais. Le tableau ci-dessous (*Tableau VI*) résume les principaux résultats rapportés dans la littérature.

**Tableau VI : Sensibilité et spécificité de l'ELISA indirect**

Etudes	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Delgado et al (1995)	94,7	90,4
Ferreira et al (2003)	96,8	100
Minas et al (2008)	98,2	99,5
Poester et al (2010)	92-100	90,6-100
Godfroid et al (2010)	97,2	97,1-99,8

- **Composition du kit**

Le tableau ci-dessous (*Tableau VII*) reprend en détail les différents composants du Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect utilisé.



**Figure 10: Composants du Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect**

**Tableau VII: Composants du Kit SERELISA® Brucella OCB Ab Mono Indirect**

<b>Nature des réactifs</b>	<b>Présentation</b>
Microplaque : 6 barrettes de 2*8 cupules sensibilisées avec des LPS de Brucella	4 microplaques
Conjugué peroxydase	Flacon de 700 µl
Tampon substrat de la peroxydase prêt à l'emploi	Flacon de 50 ml
Témoin négatif	Flacon de 5 ml
Témoin positif	Flacon de 1 ml
Diluant des échantillons	Flacon de 100 ml
Solution de lavage concentrée 10 fois	Flacon de 200 ml
Diluant du conjugué prêt à l'emploi	Flacon de 50 ml
Solution d'arrêt prête à l'emploi	Flacon de 25 ml
Films adhésifs pour microplaques	12 films

- **Mode opératoire**

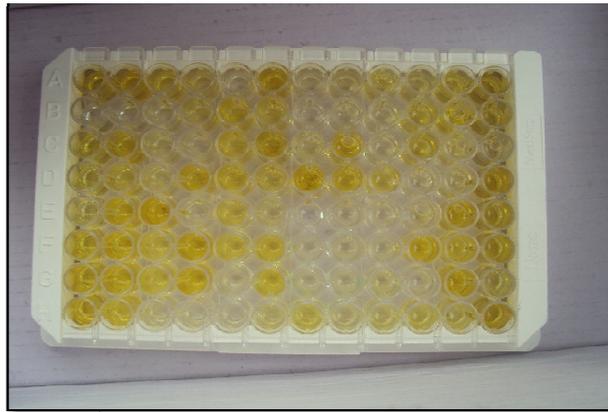
Les prélèvements ont été décongelés et les réactifs du kit ont été ramenés à température ambiante 30 minutes avant le début de l'analyse.

Après leur dilution au 1/100, les échantillons, témoins positif et négatifs, ont été déposés à raison de 100 µl par puits. La plaque a été ensuite recouverte par un film adhésif et disposée sur un agitateur pour une homogénéisation douce du contenu des puits, puis mise à l'étuve pour une incubation à 37°C pendant une heure.

Au terme de l'incubation, la plaque est lavée quatre fois, avec un volume de 100 µl de solution de lavage diluée au 1/10 par puits. Le conjugué dilué au 1/200 est ensuite distribué à raison de 100 µl par cupule, puis la plaque est incubée à nouveau à 37°C pendant 30 minutes.

Un deuxième cycle de lavage est effectué comme décrit ci-dessus, puis le tampon contenant le substrat de la peroxydase ; est réparti à raison de 100  $\mu$ l par puits. Enfin la plaque est incubée pendant 30 minutes à 20°C, dans l'obscurité.

Au bout des 30 minutes, la solution d'arrêt a été ajoutée à raison de 50  $\mu$ l par cupule après une homogénéisation en basculant légèrement la plaque (**Figure 11**). Après s'être assuré de l'absence de bulles susceptibles de gêner la lecture, celle-ci a été réalisée à 450 nm par un lecteur automatique de microplaque Bio-Teck®.



**Figure 11 : Microplaque ELISA avant sa lecture (photo personnelle)**

Les résultats sont obtenus en analysant la densité optique de chaque cupule, pour cela il faut calculer la valeur du seuil positif  $\alpha=0,6*(DO P)$ , la DO P étant la densité optique du témoin positif.

La densité optique de chaque échantillon est comparée à cette valeur seuil. Tout échantillon dont la  $DO \geq \alpha$  est considéré comme positif et tout échantillon dont la  $DO < \alpha$  est considéré comme négatif.

### III.2.2.5. Le questionnaire

Le questionnaire a été élaboré en définissant en premier lieu l'objectif général du questionnaire, puis les objectifs détaillés et les renseignements à recueillir pour enfin formuler les questions (*Toma, 2008*).

Ce questionnaire avait pour objectif général de faire un point de situation sur la campagne de vaccination.

Ses objectifs détaillés étaient l'évaluation de la campagne de vaccination, son appréciation par les vétérinaires et la définition de l'attitude et du comportement des éleveurs vis-à-vis de cette campagne.

Les renseignements à recueillir ont été les suivants:

- Comment les vétérinaires manipulent-ils le vaccin ;
- Quelles sont les mesures de sécurité prises pendant sa manipulation ;
- Combien de cheptels vaccinent-ils (nombre, taille...);
- Les difficultés qu'ils rencontrent sur le terrain : réticences des éleveurs, refus des boucles...
- Opinion vis-à-vis de l'efficacité du vaccin ;
- Opinion vis-à-vis du potentiel infectieux du vaccin ;
- Opinion vis-à-vis de la campagne de vaccination ;

En tenant compte de tous ces points, des questions pertinentes susceptibles de répondre à ces objectifs ont été formulées (*cf Annexe VI*).

Les questionnaires ont été présentés à tous les vétérinaires privés mandatés pour la campagne de vaccination de la wilaya de Tlemcen et Sidi-Belabbès : 42 questionnaires ont été distribués et collectés pour la wilaya de Tlemcen et 20 questionnaires pour celle de Sidi Belabbes.

Une fois les questionnaires remplis, les informations récoltées ont été saisies et analysées grâce au logiciel Epi info 6 (version 6.04 dfr).

### **III.2.2.6. Analyse statistique**

L'analyse statistique et les représentations graphiques ont été effectuées grâce au programme Excel 2007, l'étude des variables qualitatives a été réalisée en utilisant le test  $\chi^2$  d'indépendance, corrigé par le test de Yates lorsque les valeurs théoriques étaient inférieures à 10.

Les fréquences des réponses des vétérinaires ont été calculées grâce à la fonction analysis du logiciel Epi info 6 (version 6.04 dfr).

### III.3. Résultats

#### III.3.1. Etude de l'efficacité de la réponse sérologique

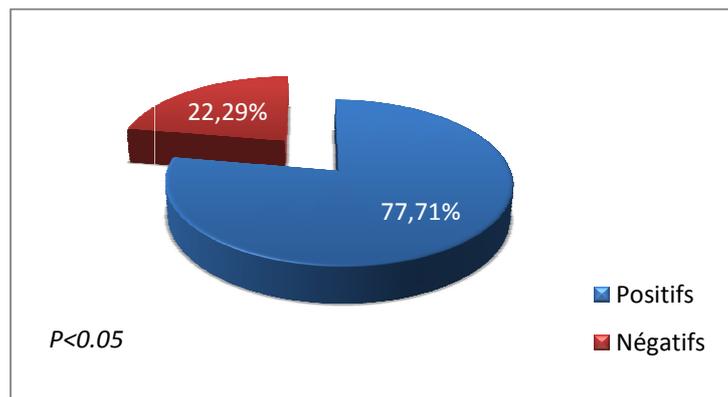
##### III.3.1.1 Dépistage des animaux avant la vaccination

Sur les 502 sérums analysés, l'épreuve à l'antigène tamponné a révélé 4 résultats positifs. Les quatre ovins positifs ; donc porteurs d'anticorps anti-brucella ; ont été éliminés de l'étude.

##### III.3.1.2. Réponse sérologique des animaux vaccinés 30 jours après vaccination

La réponse sérologique a été considérée comme positive lorsque les titres sérologiques obtenus étaient supérieurs à  $\alpha=0,193$ .

Trente jours post vaccination, l'analyse des 166 sérums par la technique de l'ELISA indirect a ainsi révélé 129 prélèvements positifs soit 77,71% (129/166) (**Figure 12**).



**Figure 12 : Réponses sérologiques vaccinales globales à J 30**

##### III.3.1.3 Réponse sérologique des animaux vaccinés 60 jours après la vaccination

L'analyse des sérums des prélèvements effectués 60 jours après la vaccination a révélé que le pourcentage d'animaux répondant à la vaccination était de 60,84% (101/166). Il y'a eu donc une perte de la couverture vaccinale de l'ordre de 16,87% qui est statistiquement significative en appliquant le test de Khi-deux avec un risque d'erreur à 5% (**Tableau VIII**).

**Tableau VIII : Réponse sérologique des animaux 30 jours et 60 jours après la vaccination**

Réponse sérologique	J30	J60
Positive	129	101
Négative	37	65

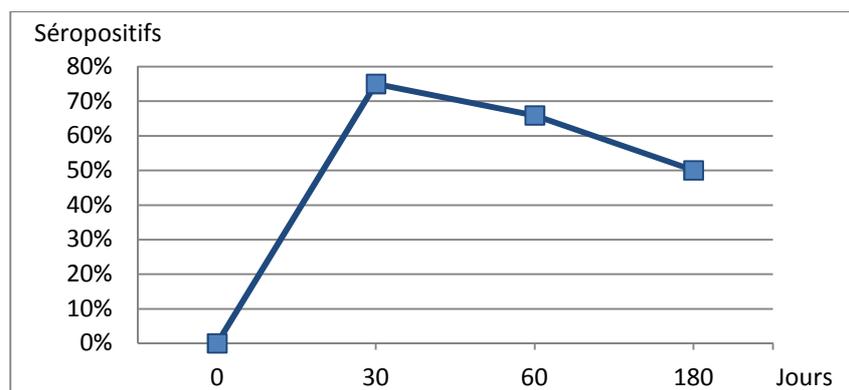
#### III.3.1.4. Evolution de la réponse vaccinale des ovins de j0 à 6 mois après la vaccination

Parmi les 166 ovins inclus dans l'étude, 44 sujets ont été suivis jusqu'à 6 mois après la date de vaccination, l'évolution de la séropositivité a été présentée dans la *figure 13*

Trente trois ovins (33/44) ont répondu positivement 30 jours après la vaccination, et 29 (29/44) ovins étaient séropositifs 60 jours post vaccination, ce nombre décline à 22 ovins (22/44) séropositifs plus de 6 mois après la vaccination.

L'application de la correction de Yates comme analyse statistique confirme que la séroconversion des ovins 30 jours après la vaccination est statistiquement significative, il en est de même pour la séroconversion à j60 et j180.

Cependant la diminution du taux de séropositivité entre j30 et j60 et entre j30 et j180 ou encore entre j60 et j180 n'est pas statistiquement significative en appliquant le test de Khi deux d'indépendance avec un risque d'erreur de 5% ( $p > 0.05$ ).

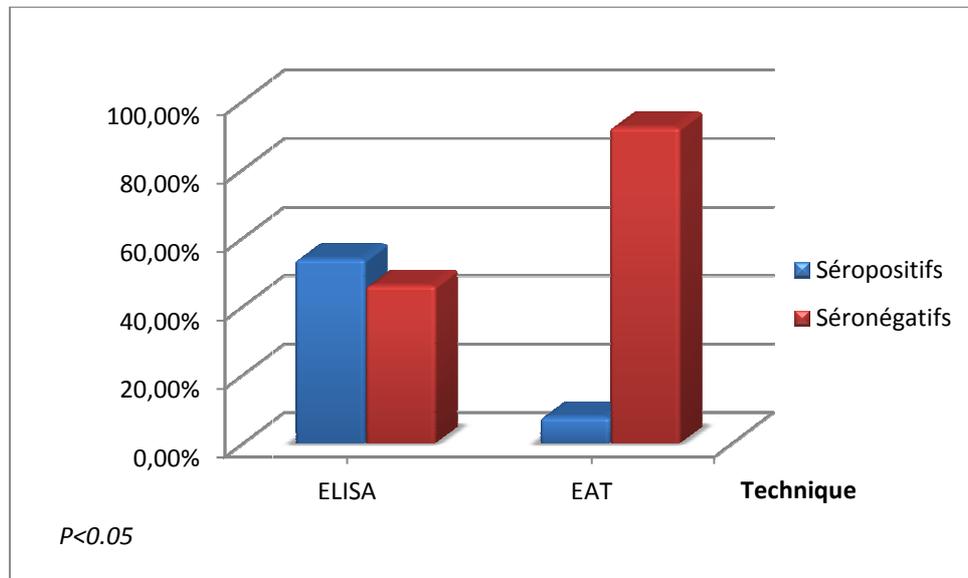


**Figure 13: Cinétique de la réponse sérologique entre J0 et J180 post vaccination**

### III.3.1.5. Etude comparative des résultats obtenus par les techniques ELISA et EAT

Les sérums obtenus des prélèvements effectués 6 mois après la vaccination ont été analysés par ELISA mais également par l'épreuve à l'antigène tamponné.

Vingt et un prélèvements ont été révélés positifs soit un taux de 53,85% (21/39) par ELISA alors que seuls trois prélèvements ont été considérés positifs par l'EAT soit 7,69% (3/39) (*Figure 14*).



*p<0,05*

**Figure 14 : Etude comparative des résultats obtenus par ELISA et EAT**

L'application de la correction de Yates du test de khi-deux avec un risque d'erreur de 5% aux résultats obtenus par les deux tests (ELISA et EAT) confirme que la différence observée est statistiquement significative ( $p<0,05$ ).

### III.3.1.6. Influence du sexe sur la réponse sérologique des ovins à J30, J60

Le *tableau IX* reprend les résultats des analyses effectués par le test ELISA à 30 jours et 60° jours après la vaccination répartis selon le facteur sexe

**Tableau IX : Influence du sexe sur la réponse vaccinale à J30 et J60**

Jours	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Males	Femelles	Males	Femelles
<b>J30</b>	84,13	73,79	15,87	26,21
	(53/63)	(76/103)	(10/63)	(27/103)
<b>J60</b>	71,42	60,19	28,57	39,80
	(45/63)	(62/103)	(18/63)	(41/103)

$p > 0,5$

#### *A 30 jours post vaccination :*

Sur les 103 sérums de femelles analysés, 73,79% étaient positifs à la vaccination. Par ailleurs, les sérums de cinquante trois mâles sur les soixante trois analysés se sont révélés positifs soit un taux de 84,13%.

#### *A 60 jours post vaccination :*

Les résultats obtenus montrent que le taux de femelles séropositives décline modestement à 60,19% et celui des mâles séropositifs baisse à 71,42 %.

Néanmoins, les différences observées sont statistiquement non significatives (Test de khi-deux d'indépendance), démontrant l'absence d'influence du sexe dans la réponse vaccinale anti-brucellique dans nos conditions expérimentales ( $p > 0,05$ ).

### III.3.1.7. Etude de l'influence de la variable âge sur la réponse sérologique des ovins à J30 et J60

Les résultats de l'étude de la réponse sérologique des ovins vaccinés selon l'âge ont été compilés dans le tableau ci-dessous (*Tableau X*).

**Tableau X : Présentation des résultats obtenus pour la variable âge à J30, J60**

	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Jeunes	Adultes	Jeunes	Adultes
<b>J30</b>	74,73	81,30	23,07	18,66
	(68/91)	(61/75)	(23/91)	(14/75)
<b>J60</b>	58,24	64,00	41,76	36,00
	(53/91)	(48/75)	(38/91)	(27/75)

$p > 0,5$

#### ***A 30 jours post vaccination :***

Dans la population de jeunes ovins (< 1 an), 74,73% ont répondu positivement à la vaccination. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent que le taux de séropositivité est plus élevé chez les ovins adultes (> 1 an) soit 81,33%.

#### ***A 60 jours post vaccination :***

Une réduction des taux de séropositivité est constatée pour les deux tranches d'âge, ainsi, seulement 58,24 % des jeunes ovins vaccinés et 64 % des ovins adultes répondent encore positivement 2 mois après la prise vaccinale.

L'étude statistique des résultats (Test statistique khi-deux) montre l'absence de différence significative entre la réponse vaccinale des jeunes ovins et des adultes ( $p > 0,05$ ).

Cependant, il apparaît que les jeunes ovins et les adultes ont eu une perte de la couverture vaccinale entre J30 et J60. Cette dernière est de 74,73% à 58,24% pour les jeunes ovins, et de 81,30% à 64% pour les adultes. La différence observée est statistiquement significative en appliquant le test de khi-deux d'indépendance avec un risque d'erreur  $\alpha$  à 5%.

### III.3.1.8. Etude de l'influence de l'âge en fonction du sexe des animaux sur la réponse sérologique

- Femelles

*Le tableau XI* compile les résultats obtenus de l'analyse des sérums des femelles en fonction de l'âge à J30 et J60.

#### *A 30 jours post vaccination :*

Chez les jeunes femelles (< 1an), le taux de séroconversion est de 66,67% (26/39), tandis que pour les adultes il est de l'ordre de 78,12% (50/64). Cette légère différence reste statistiquement non significative.

#### *A 60 jours post vaccination :*

L'analyse des sérums des jeunes et adultes femelles 60 jours après la vaccination décèle une différence entre la réponse vaccinale des jeunes qui est de 41,03% (16/39) et des adultes qui est de 62,5% (40/64).

L'étude statistique en appliquant le test de khi-deux d'indépendance au risque d'erreur 5%, confirme ( $p < 0,05$ ) l'influence de l'âge sur la réponse vaccinale chez les femelles à 60 jours post vaccination dans notre étude.

**Tableau XI : Influence de la variable âge sur les séroconversions des femelles à J30 et J60**

	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Jeunes	Adultes	Jeunes	Adultes
<b>J30</b>	66,67% (26/39)	78,12% (50/64)	33,33% (13/39)	21,88% (14/64)
<b>J60</b>	41,03% (16/39)	62,5% (40/64)	58,97% (23/39)	37,5% (24/64)

$P > 0,05$

- **Mâles**

*Le tableau XII* compile les résultats obtenus de l'analyse des sérums des mâles en fonction de l'âge à J30 et J60.

**A 30 jours post vaccination :**

Dans la population d'ovins mâles, tous les adultes ont répondu positivement à la vaccination (11/11), tandis que 80,77% des agneaux étaient séropositifs 30 jours après la vaccination (42/52).

La différence entre la réponse des jeunes ovins et des adultes est statistiquement non significative en appliquant la correction de Yates au risque d'erreur de 5%.

**A 60 jours post vaccination :**

Chez les adultes, le pourcentage d'animaux qui ont répondu favorablement à la vaccination est descendu à 72,73% (8/11). Chez les jeunes ovins nous avons obtenu un taux de 71,15% (37/52).

Cette différence est également non significative en appliquant le test de Khi-deux à un pourcentage d'erreur de 5%.

**Tableau XII : Influence de la variable âge sur les séroconversions des mâles à J30 et J60**

	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Jeunes	Adultes	Jeunes	Adultes
<b>J30</b>	80,77% (42/52)	100% (11/11)	19,23% (10/52)	0% (0/11)
<b>J60</b>	71,15% (37/52)	72,73% (8/11)	28,85% (15/52)	27,27% (3/11)

$P > 0.05$

### III.3.1.9. Etude de l'influence de la variable sexe et âge sur la réponse sérologique à J180

Quarante quatre ovins ont été suivis grâce à leur boucle d'identification jusqu'à 6 mois après leur vaccination.

Après avoir analysé les sérums par la technique ELISA, les résultats obtenus sont présentés dans *les tableaux XIII et XIV*.

**Tableau XIII : Influence de la variable âge sur la réponse sérologique à J180**

	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Jeunes	Adultes	Jeunes	Adultes
<b>J180</b>	59,37%	40%	40,63%	60%
	(19/32)	(4/10)	(13/32)	(6/10)

*P>0,05*

**Tableau XIV : Influence de la variable sexe sur la réponse sérologique à J180**

	Séropositifs (%)		Séronégatifs (%)	
	Males	Femelles	Males	Femelles
<b>J180</b>	5,88%	81,48%	94,12%	18,52%
	(1/17)	(22/27)	(16/17)	(5/27)

*P<0.05*

L'analyse des prélèvements effectués 180 jours après la vaccination avec la technique ELISA a révélé une persistance des anticorps vaccinaux chez 59,37% (19/32) des jeunes ovins et 40% (4/10) des adultes.

La différence constatée est statistiquement non significative en appliquant la correction de Yates du test de Khi deux d'Indépendance pour un risque d'erreur à 5%.

Dans la population des mâles, seulement 5,88% étaient encore séropositifs 180 jours après la vaccination, contrairement aux femelles où 81,48% des brebis étaient encore séropositives.

Cette différence est statistiquement significative en appliquant la correction de Yates au risque d'erreur de 5%

### **III.3.2. Résultats de l'enquête**

Les résultats de l'analyse des questionnaires récoltés auprès des vétérinaires mandatés dans le cadre de la campagne de vaccination et traités par le logiciel EPI-INFO version 6.04fr sont présentés ci-dessous.

#### **III.3.2.1. Connaissance du vaccin par les praticiens**

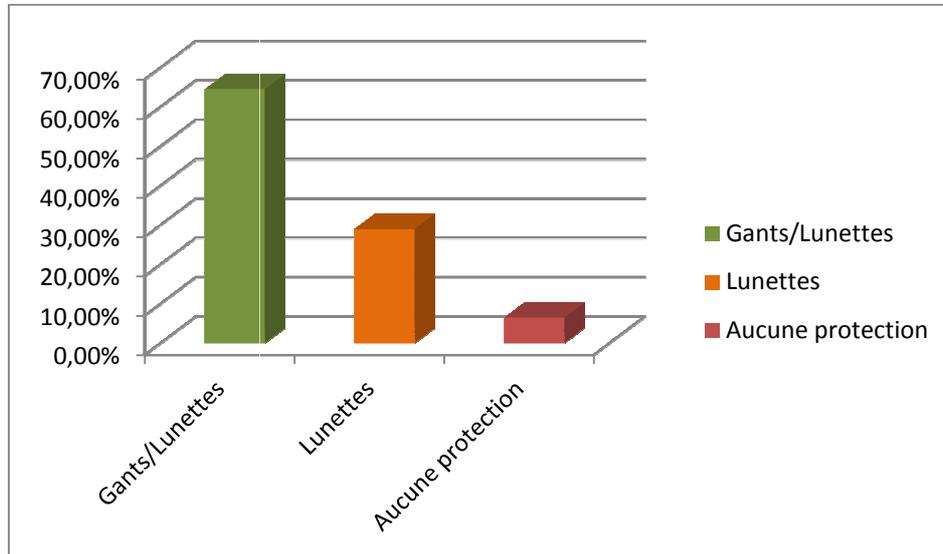
Selon les réponses données dans le questionnaire tous les vétérinaires transportent le vaccin dans une glacière, néanmoins 19,35% (12/62) d'entre eux le font pour de mauvaises raisons.

Les résultats obtenus montrent qu'une grande majorité des praticiens ; soit 83,9% (52/62) ; connaît le type de vaccin utilisé. Seuls dix vétérinaires semblent ignorer que le Coglarev® souche Rev1 est un vaccin vivant.

#### **III.3.2.2 Conditions d'utilisation du vaccin**

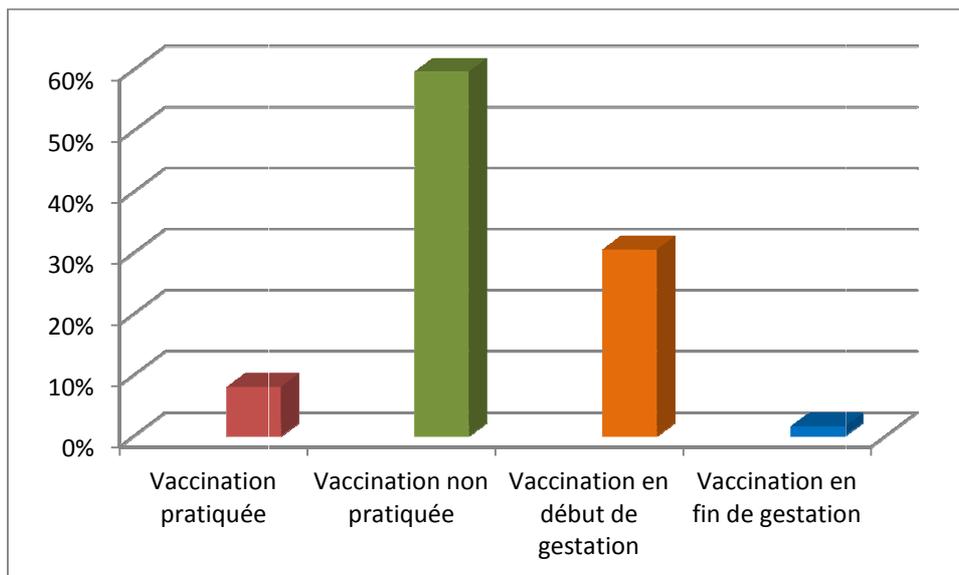
*Conditions de transport du vaccin :* L'ensemble des vétérinaires interrogés sur les conditions d'utilisation du vaccin transportent ce dernier dans une glacière. Néanmoins, 32,3% (20/62) d'entre eux ne contrôlent pas la température de leur glacière durant leur déplacement.

**Mesures de protection :** La majorité des praticiens 64,5% (40/62) disent prendre des mesures de sécurité en portant gants et lunettes, 29% (18/62) se contentent de lunettes et enfin 6,5% (4/62) ne mettent aucune protection (**Figure 15**).



**Figure 15 : Mesures de protection prises par les vétérinaires**

**Vaccination des femelles gestantes :** La vaccination des femelles gestantes est non pratiquée par 59,7% (37/62) des vétérinaires, tandis que 30,6% (19/62) vaccinent les femelles gestantes si elles sont en début de gestation (**Figure 16**). 37,1% (23/62) des vétérinaires ont déjà été confrontés à des cas d'avortement après la vaccination.



**Figure 16 : Pourcentage de vétérinaires vaccinant les femelles gestantes**

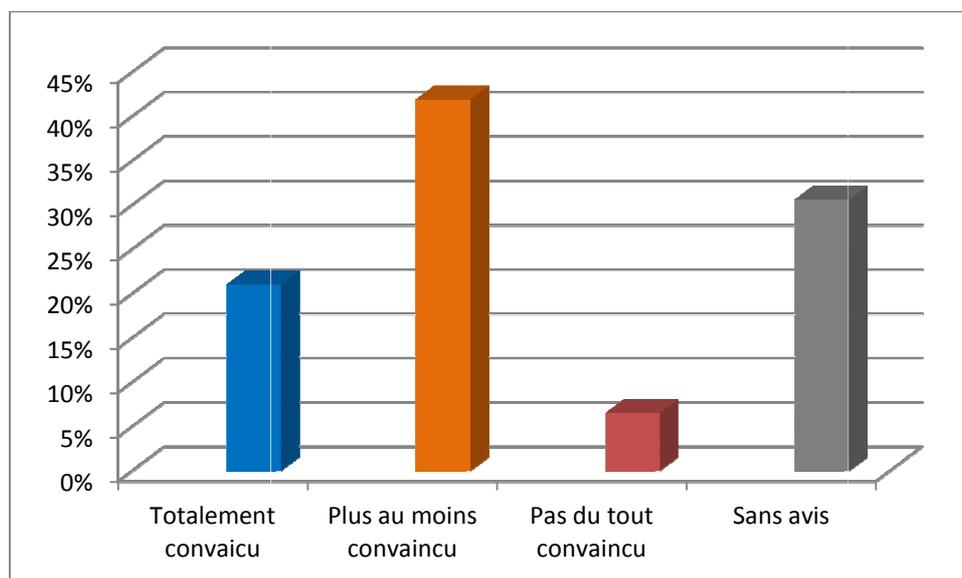
Enfin, Il apparait dans le traitement des réponses du questionnaire que 79% (49/62) des vétérinaires ne vaccinent pas tous les cheptels qui leurs sont attribués pour les raisons suivantes : refus des éleveurs, rémunération financière insuffisante et enfin insuffisance des quotas de doses de vaccin.

### III.3.2.3. Perception du vaccin par les vétérinaires

**Sécurité & risque de contamination:** La manipulation du vaccin est jugée dangereuse par 87,1% (54/62) des vétérinaires. Vingt et un vétérinaires considèrent que le risque de contamination est réel soit 33,9 %(21/62).

De plus 25,8% (16/62) des vétérinaires affirment avoir déjà entendu parler de contamination accidentelle de deux confrères.

**Efficacité du vaccin :** 41,9% (26/62) des vétérinaires semblent être plus au moins convaincus de l'efficacité du vaccin Coglarev® (**Figure 17**) et seulement 48,4% (30/62) d'entre eux pensent que cette campagne de vaccination va aboutir à des résultats concluants.



**Figure 17 : Perception du vaccin par les vétérinaires**

#### **III.3.2.4. Réaction des éleveurs face à la campagne de vaccination**

*Adhésion à la vaccination* : Le refus de la vaccination par certains éleveurs est imputé selon 51,6% (32/62) des vétérinaires, au fait que les éleveurs soient convaincus que le vaccin possède des effets secondaires, d'autres vétérinaires ; soit 27,4% (17/62) ; rapportent que les éleveurs le considèrent comme un vaccin dangereux.

Selon 45,2% (28/62) des vétérinaires, les éleveurs refusent les boucles d'identification placées à l'oreille de l'animal afin de les différencier des animaux non vaccinés.

Plus de la moitié des vétérinaires 58,1% (36/62) ne semble pas avoir d'explication concernant ce refus, tandis que 32,3% (20/62) pensent que les éleveurs rencontreraient des difficultés à vendre les animaux identifiés.

S'agissant des mesures de protection prises par les vétérinaires, 69,4% (43/62) de ces derniers affirment qu'elles rendent les éleveurs réticents et suspicieux.

# «*Discussion*»

## VI. DISCUSSION

Il est aujourd'hui établi que la vaccination constitue un outil de lutte performant pour le contrôle de la brucellose des petits ruminants dans les régions endémiques. Elle constitue d'autre part, une mesure de prévention efficace de propagation de la maladie en réduisant l'excrétion de matières virulentes par les sujets infectés, la contamination de l'environnement et les taux d'infections des animaux exposés (*OMS, 1986*).

Ce n'est qu'en 2006 que l'Algérie a modifié son programme de lutte contre la brucellose, en instaurant des campagnes de vaccinations qui ont permis la vaccination progressive de plus de 21 millions de petits ruminants (*Source DSV*).

Le vaccin Coglarev® souche Rev1 commercialisé par CEVA Santé Animale a été retenu par le MADR pour l'immunisation des ovins et caprins. Les vaccins atténués *B. melitensis* (Souche Rev.1) sont effectivement les plus largement utilisés pour la prévention de la brucellose chez les petits ruminants et constituent un pilier des programmes de lutte contre la brucellose. Néanmoins, aucune donnée spécifique de l'efficacité de l'immunité conférée aux ovins par le Coglarev® souche Rev1 en Algérie n'est réellement disponible.

Notre étude a eu, par conséquent, comme objectif l'étude de l'efficacité de la vaccination anti-brucellique par l'évaluation, d'une part, de la réponse séro-vaccinale des cheptels de petits ruminants en Algérie, et l'étude, d'autre part, des conditions d'utilisation du vaccin sur le terrain par la réalisation d'une enquête par questionnaire auprès des vétérinaires participant à la campagne.

Le dépistage des animaux avant la vaccination avec le Rose Bengale a révélé quatre résultats positifs. Ces résultats n'ont pas été confirmés par le test de fixation du complément (qui est un test plus spécifique) comme l'exige le manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestre de l'OIE afin d'éliminer les faux positifs, car l'objectif n'était pas de déterminer la prévalence apparente et réelle de la population étudiée mais de s'assurer que les animaux qui allaient être vaccinés n'étaient pas sérologiquement positif à la brucellose.

L'évaluation de l'efficacité de la réponse vaccinale a été réalisée par une technique immuno-enzymatique « ELISA indirecte » qui permet la détection des immunoglobulines anti-LPS. Cette technique se caractérise par une sensibilité élevée variant entre 98,2 % et 100 % selon les auteurs (*Minas et al, 2008 ; Poester et al, 2010*). Elle présente un taux de spécificité variant entre 97.1 et 99.8% (*Godfroid et al, 2010*).

Le choix de cette technique lors de notre étude trouve sa justification, d'une part, dans sa sensibilité élevée et d'autre part, dans sa capacité à détecter toutes les classes des anticorps. Enfin, la simplicité de réalisation de la technique de l'ELISA indirect et sa rapidité d'exécution pour un nombre important d'échantillons ont également motivé le choix de cette technique (*Al°Hassan et al, 2012*).

Différents autres tests peuvent être utilisés pour la recherche d'anticorps vaccinaux, nous pouvons énumérer :

***Le test du Rose Bengale***, qui est un test d'exécution rapide mais dont le résultat est influencé par la standardisation de la procédure de préparation de l'antigène utilisé qui varie avec les laboratoires (*Bercovich et al, 1998*), de plus, il possède une faible spécificité (*Poester et al, 2010*) ;

***Le test de fixation du complément***, qui présente un taux de spécificité élevé mais une faible sensibilité (*Godfroid et al, 2010*). Il s'agit d'un test de réalisation compliquée, non compatible avec les sérums hémolysés et qui peut présenter le phénomène de prozone (*Anonyme(b), 2001*) ;

***La technique de séroagglutination en tube***, qui est un test de réalisation lente car il nécessite une incubation de 8 à 24 heures (*Poester et al, 2010*). Il possède un faible taux de sensibilité et de spécificité (*Godfroid et al, 2010*) ;

***L'immunofluorescence indirecte***, est une technique simple et rapide d'exécution mais il n'existe pas assez de données sur son utilisation chez les petits ruminants contrairement aux bovins (*Anonyme(b), 2001*).

L'analyse des prélèvements réalisée 30 jours après la vaccination a donné une séroconversion chez la majorité des ovins vaccinés (77,71%). Ce résultat est comparable à celui obtenu par Stournara et al (2007), qui rapportent un taux de 75,47 % à J21 lors d'une étude menée sur l'évaluation de la réponse sérologique des ovins grecs au vaccin CZV Rev-1® (**CZ Veterinaria**) inoculé par voie conjonctivale. Un taux plus élevé de séropositifs (90 %) a été décrit au Maroc par El Idrissi et al (2001) chez les ovins vaccinés par le vaccin *B. melitensis* Rev.1 (*El Idrissi et al, 2001*).

L'allure décroissante des taux d'anticorps concorde avec les connaissances théoriques en immunologie qui décrivent des taux importants d'immunoglobulines, après un contact récent du système immunitaire avec l'antigène vaccinal et qui déclinent progressivement dans le temps (*Kindt & al, 2008, Male & al, 2007*). La décroissance des titres des anticorps dans le temps a été rapportée par la majorité des auteurs.

L'analyse des sérums 60 jours après la vaccination a démontré une perte de la couverture vaccinale. En effet, le pourcentage des animaux sérologiquement positifs à la vaccination est descendu à 60,84%. Cette diminution est statistiquement significative, et a été observée lors des études menées par Stournara et al (2007), en Grèce, qui ont obtenu une perte de la couverture vaccinale de l'ordre de 18,4% chez les jeunes ovins, ou encore Zundel et al (1992), en France, qui ont rapporté une perte de la couverture vaccinale de l'ordre de 40% chez des brebis vaccinées par voie conjonctivale à la dose de  $3 \times 10^8$  UFC. Ce résultat n'a toute fois pas été observé lors de l'étude de Jimenez de Bagués et al (1989), en Espagne, qui ont obtenu un maintien du pourcentage de la réponse sérologique positive de 90% avec la souche française (INRA) et 85% avec un vaccin espagnol 60 jours après la vaccination.

Cette perte de la couverture vaccinale peut être attribuée à une mauvaise administration du vaccin. Les sujets vaccinés ont donc probablement reçu une quantité insuffisante de la souche vaccinale. La stimulation du système immunitaire a été dans ce cas insuffisante, ce qui pourrait expliquer la réponse sérologique « éphémère » observée (*Heininger et al, 2012*).

Le statut immunologique des sujets vaccinés peut être également la cause d'un échec vaccinal. En effet, des ovins présentant de la gale ou non déparasités ne peuvent répondre correctement à la vaccination (*Grézel, 2006*). Sachant que, selon les renseignements récoltés auprès des éleveurs et des vétérinaires, seulement deux élevages sur les six élevages inclus dans l'étude ont suivi un traitement de déparasitage avant la vaccination.

La population étudiée comprenait des mâles et des femelles. Le pourcentage de réponse sérologique positive des mâles à J30 (84,13%) n'est pas statistiquement différente de celui des femelles (73,79%). Selon notre étude le sexe de l'animal n'influe donc pas sur la réponse vaccinale, cependant aucune donnée bibliographique ne peut confirmer ou infirmer ce résultat.

L'étude de la variable âge sur les résultats obtenus à partir de l'analyse des prélèvements effectués 30 jours et 60 jours après la vaccination révèle une réponse sérologique moins importante chez les jeunes ovins par rapport aux adultes mais qui est statistiquement non significative. Le facteur âge semble donc ne pas influencer sur la réponse vaccinale dans nos conditions expérimentales, ce qui est en accord avec l'étude menée par Neto et Vaz (2002) qui ont étudiés au Portugal la réponse sérologique des ovins au vaccin Rev1 (marque non précisée, provenant d'Italie) en utilisant l'EAT et le CF. En revanche, des études menées en Espagne et en Grèce ont décrit une réponse sérologique moins importante chez les jeunes ovins par rapport aux adultes statistiquement significative (*Marin et al, 1999., Jimenez de Bagues, 1992., Stournara et al, 2007*).

Il est à relever que l'étude du facteur âge en fonction du sexe a donné une différence significative entre la réponse vaccinale des agnelles (qui était moins importante) et celle des brebis.

La voie d'administration du vaccin a fait l'objet de plusieurs études. En effet, la voie d'administration initiale du vaccin Rev1 était la voie sous cutanée qui procurait une bonne réponse immunitaire mais dont la réponse sérologique était durable dans le temps ce qui interférait avec les tests de diagnostic (*El idrissi et al, 2001*) et induisait des avortements chez les femelles gestantes (*Zundel et al, 1992*).

Pour pallier à ces inconvénients, plusieurs études entreprises afin d'évaluer la voie d'administration conjonctivale ont constaté que la vaccination des brebis par la voie conjonctivale réduisait le taux d'avortement et d'excrétion de la souche Rev1 (*Jiménez de Bagués et al, 1992*). *Fensterbank et al (1982 ; 1985)*, en France, ont obtenu une persistance des anticorps vaccinaux pendant 17 à 20 mois après la vaccination par la voie sous cutanée et de seulement 4 mois par la voie conjonctivale. Delgado et al (1995), ont obtenu une persistance des anticorps vaccinaux au-delà de 9 mois en vaccinant des ovins avec une dose de  $1.2 \cdot 10^9$  UFC par le voie sous cutanée.

La non persistance des anticorps vaccinaux au-delà de quelque mois après une administration par voie conjonctivale trouve son explication dans le fait que l'infection est limitée au niveau des nœuds lymphatiques de la tête (*Jiménez de Bagués et al, 1992*).

La vaccination par la voie conjonctivale permettrait donc de concilier la prophylaxie médicale à la prophylaxie sanitaire, du fait de la non persistance des anticorps vaccinaux au-delà de quelques mois. Le dépistage des animaux vaccinés peut être envisagé et les animaux infectés ainsi éliminés. L'éradication de la brucellose sera, par ce fait, un objectif plus facile à atteindre.

L'analyse des prélèvements 6 mois après la vaccination avec la technique ELISA et l'EAT a permis d'étudier la persistance des anticorps vaccinaux. En utilisant le test ELISA 53,85% des ovins possédaient encore des anticorps vaccinaux. Ce résultat est presque similaire aux résultats de *Aldomy et al (2009)*, qui ont étudié en Jordanie la réponse sérologique d'ovins vaccinés par le vaccin Brucevac® et ont obtenu un taux de 40% de positivité par la technique ELISA, 6 mois après la vaccination. Récemment, une étude menée en Iraq a montré que l'ensemble des brebis vaccinées avec le vaccin espagnol CZVREV1 par voie conjonctivale étaient encore séropositives six mois après (*Al-Hankawe, 2009*).

Les résultats obtenus par la technique de l'EAT, montraient que seulement 7,69% d'ovins étaient encore séropositifs 6 mois après la vaccination. Ce résultat rejoint celui de *Stournara et al (2007)*, qui n'ont détecté aucune réponse vaccinale chez les jeunes ovins 4 mois après la vaccination avec le vaccin CZVREV1 par voie conjonctivale, et seulement 25,5% d'ovins adultes étaient encore séropositifs.

Il concorde également avec le résultat obtenu par *Fensterbank et al (1985)*, en France, qui ont rapporté qu'aucune des brebis vaccinées avec une souche Rev1 fournie par l'université de la Colombie à la dose de  $1,4 \cdot 10^9$  UFC n'était encore séropositive.

D'autres auteurs rapportent en revanche des taux variant de 40% à 90 % 4 mois après la vaccination (*Al Hassan et al, 2012 ; Zundel et al, 1992*).

Cependant, nos résultats sont confortés par le fait que l'EAT détecte les anticorps IgM de disparition plus précoce que celle des IgG (*Godfroid et al, 2010 Stournara et al, 2007*).

L'épreuve à l'antigène tamponné est le test de référence recommandé par l'OIE. Il est utilisé comme test de routine pour le dépistage de la brucellose. De ce fait, la détection d'un faible pourcentage d'animaux encore séropositifs 6 mois après la vaccination en utilisant le test de l'EAT confirme les propos des firmes pharmaceutiques en ce qui concerne l'éventualité de dépister les animaux vaccinés 6 mois après la date de vaccination.

Cependant, cette démarche n'est pas validée et ce n'est qu'un constat des études menées. C'est pour cela que les laboratoires de recherche tendent à concevoir un test qui puisse distinguer les anticorps infectieux des anticorps vaccinaux tel que l'ELISA de compétition en utilisant la protéine cytosoluble BP26 comme antigène et un anticorps monoclonal (*Debbbarh et al, 1996*). D'autres recherches se sont orientées vers l'essai d'autres vaccins comme le vaccin RB51, initialement développé pour la vaccination des bovins (ne possédant pas d'antigène O-LPS, la vaccination n'induit donc pas d'anticorps contre le O-LPS, par conséquent, les sujets vaccinés ne seront pas positifs avec les tests de diagnostic). Malheureusement, ce vaccin s'est révélé moins efficace que le Rev1 (*El idrissi et al, 2001*).

Concevoir un vaccin simple d'utilisation, inoffensif pour l'homme et n'entraînant pas de confusion entre animaux infectés et vaccinés, tels sont les trois objectifs de plusieurs projets de recherche soutenus par l'Union Européenne. L'un d'eux, coordonné par une équipe de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Nouzilly (France), avait pour but de concevoir un couple test/vaccin capable d'induire la protection des animaux vaccinés et de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés en produisant une souche Rev.1 conservant ses propriétés vaccinales mais n'exprimant plus la protéine BP 26 dont la présence a été récemment identifiée pour le diagnostic de l'infection (*Anonyme(m), 2003*).

Plusieurs pays ont réussi à éradiquer la brucellose, dont la France qui a réussi à éradiquer la brucellose des petits ruminants suite à un programme qui a débuté en 1970. En 1986, la situation était stagnante en terme de prévalence et le constat d'échec a été déclaré. Leur nouvelle stratégie a été orientée vers une coordination étroite entre les vétérinaires et les éleveurs. La vaccination est devenue obligatoire ainsi que le dépistage des adultes dans les régions où la vaccination n'était pas appliquée avec l'abatage des animaux séropositifs et l'abattage de tous les cheptels si le pourcentage des animaux positifs était supérieur à 5% afin d'accélérer l'assainissement.

En parallèle, une organisation et une gestion stricte de la transhumance a été appliquée (seuls les troupeaux séro-négatifs étaient autorisés à se déplacer) et des réunions de planification annuelle entre les différents partenaires (Ministère, laboratoire vétérinaire départementale, les vétérinaires, fédération nationale des groupements des défenses sanitaires...) ont été programmées.

En 1992, l'organisation et la gestion de la transhumance a été renforcée (seuls les troupeaux indemnes étaient autorisés à se déplacer) et un contrôle des achats des animaux appliqué (**Garin-Bastuji, 2007**).

En 2009, 64 départements français étaient reconnus officiellement indemnes de brucellose ovine et caprine et l'incidence de la maladie est nulle depuis 2004 (**Fediaevsky, 2009**).

L'extrapolation de ce type de plan de lutte réussi à notre pays, en respectant les spécificités de notre terrain devrait contribuer au succès du programme de lutte contre la brucellose mais cela suppose avant tout une action coordonnée de tous les acteurs impliqués.

La vaccination est un acte dont l'efficacité dépend de plusieurs facteurs : des facteurs intrinsèques liés au vaccin, au protocole vaccinal et à la stratégie vaccinale choisie, et des facteurs extrinsèques liés à l'état de santé de l'animal et surtout au respect des règles de conservation du vaccin (**Boullier et Bertagnoli, 2002**).

Par conséquent, l'évaluation des vétérinaires sur leur connaissance du vaccin Coglarev® souche Rev1 nous a semblé constituer un élément incontournable de notre étude.

Les 62 vétérinaires qui ont répondu au questionnaire disent transporter le vaccin dans une glacière. Cependant 35,48% ignorent les raisons pour les quelles ceci est obligatoire.

De plus, 32,3% des vétérinaires ne contrôlent pas la température de leur glacière. Par conséquent, lors de déplacement prolongé et/ou éloigné, la chaîne du froid est rompue et la glacière perd son utilité devenant un « coffre à médicaments ».

Le vaccin Rev1 est un vaccin vivant qui possède donc un pouvoir pathogène résiduel (*Banai, 2001*). Sa manipulation doit se faire avec précaution (*Anonyme(b), 2001*). 65,4% des vétérinaires en sont conscients et portent des protections (gants et lunettes), tandis que 29% se contentent de lunettes et 6,5% ne prennent aucune protection. Le risque de transmission potentielle de *Brucella melitensis* souche Rev 1 a été confirmé par sa mise en évidence par PCR chez deux personnes en Israël (*Svetlana et al, 2002*).

La comparaison entre le nombre de vétérinaires contaminés par la souche sauvage et par la souche Rev1 aurait été intéressante à étudier pour discuter du degré du danger professionnel que peut représenter ou non le vaccin Rev1. Malheureusement, les données ne sont pas disponibles.

L'avortement des femelles gestantes vaccinées constitue l'un des inconvénients à l'utilisation des vaccins vivants. Lors de notre enquête, 59,7% des vétérinaires ont déclaré ne pas vacciner les femelles gestantes. En revanche 30,6% des praticiens interrogés vaccinent les femelles si elles sont en début de gestation.

Le taux d'avortement est dépendant du stade de gestation au moment de la vaccination, il est significativement plus bas lorsque la vaccination est pratiquée le dernier mois de gestation et non en début de gestation (*Anonyme(b), 2001*). Il est donc clair que les vétérinaires ne sont pas bien informés sur les contre indications du vaccin malgré que ces dernières soient bien précisées dans la notice.

Lors d'une campagne de vaccination, il est important que la couverture soit assez importante pour induire une immunité troupeau efficace. 79% des vétérinaires ne vaccinent pas tous les cheptels à leurs actifs pour diverses raisons :

- Le refus des éleveurs qui est en général justifié par une peur du vaccin. En effet, selon les vétérinaires, la plupart des éleveurs sont convaincus que le vaccin possède plus d'inconvénients que d'avantages, et le fait que les vétérinaires prennent des mesures de protection en portant gants et lunettes n'a fait qu'augmenter leur crainte. Ces aprioris doivent être gérés par le vétérinaire car c'est à lui d'expliquer à l'éleveur tous les avantages de la vaccination.
- La valeur de la rémunération financière qui selon l'article 4 du décret exécutif n°3.-173 paru dans le journal officiel N°72 du 02-11-2005 (*cf Annexe VII*) est fixée à 10 DA par tête ovine ou caprine vaccinée. Cette rétribution est jugée insuffisante par les vétérinaires qui estiment que la vaccination et l'identification des animaux prennent beaucoup de temps et lui préfèrent des actes médicaux plus lucratifs.
- Le refus des éleveurs par rapport à l'identification de leurs animaux vaccinés est également une contrainte rencontrée par les vétérinaires, car l'absence d'identification de ces animaux compromet le bon déroulement de la stratégie de lutte mise en place.

Enfin, un peu moins de la moitié seulement des vétérinaires questionnés semble plus au moins convaincue de l'efficacité du vaccin Coglarev® souche Rev1 et de la réussite de cette campagne de vaccination entamée depuis 2006. Ce dernier constat est des plus préoccupants dans la mesure où le vétérinaire est le pivot de cette démarche prophylactique et sans son implication pleine et entière sa réussite est plus que compromise.

***« Conclusion et  
Recommandations »***

### CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

Le principal objectif du programme de lutte contre la brucellose mis en place par les services vétérinaires depuis 2006 est la réduction de la prévalence de la brucellose animale afin de diminuer les pertes de production liées à cette pathologie mais également la réduction de l'incidence de la brucellose humaine.

La vaccination des petits ruminants avec le vaccin Rev1 devait conférer une couverture vaccinale aux cheptels et réduire les taux d'infection ou dans une moindre mesure, réduire l'excrétion de la bactérie et les taux d'avortements.

Lors de notre étude, plus de trente pour cent (30,16%) des ovins vaccinés n'ont pas répondu positivement à la vaccination. Selon les résultats de notre enquête, cet échec vaccinal pourrait être imputé à différents facteurs liés à l'animal lui-même ou aux conditions de vaccination. Une meilleure formation des praticiens vétérinaires constitue par conséquent, la clé de voute à la réussite de cette campagne de vaccination. L'amélioration de l'état de leur connaissances du vaccin et de ses conditions d'utilisation (continuité de la chaîne du froid, état sanitaire des animaux vaccinés ....) pourrait être aisément obtenue par l'organisation de cycles de formation destinés notamment aux vétérinaires mandatés avant le lancement de chaque campagne de vaccination. Ces réunions permettraient également d'apaiser les craintes des praticiens quant à la virulence potentielle du vaccin Rev1 et leur sensibilisation à l'adoption de moyens de protection efficaces. Effort pédagogique qui devrait être, par ailleurs, étendu aux éleveurs. Enfin, l'adhésion des docteurs vétérinaires ne saurait être pleine et entière sans une bonification attractive de la rémunération de l'acte vaccinal.

L'analyse sérologique d'un échantillonnage plus important devrait apporter la confirmation de l'absence d'anticorps vaccinaux détectables six mois après la vaccination par la technique EAT dans nos conditions expérimentales, ce qui permettrait aux services vétérinaires de procéder au dépistage de la brucellose et de combiner la prophylaxie médicale et sanitaire en attendant le développement des vaccins délévés ainsi que leurs kits de diagnostic et leur acquisition, bien entendu, par l'Algérie.

En conclusion, le programme de lutte contre la brucellose doit être doté de moyens humains et matériels nécessaires à la réalisation continue et régulière des différentes actions programmées. Sa réussite est plus que jamais tributaire de l'engagement à moyen et à long terme des autorités publiques (DSV), du docteur vétérinaire sans omettre l'éleveur sans la collaboration duquel, tout programme de vaccination serait voué à l'échec.

**«*Références  
bibliographiques*»**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**ABADIA, G., PICU, C., 2005.** Zoonoses d'origine professionnelle. Toxicologie-pathologie professionnelle. (16) :1-10.

**ACHA, P, N., SZYFRES, B., 2005.** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'Homme et aux animaux. Volume I : Bactérioses et mycoses. 3<sup>e</sup> ed. Ed. OIE. Paris. 382p.

**ADAMS, L, G., SCHUTTA, C, J., 2010.** Natural resistance against brucellosis : a review. The open veterinary science journal. (4) : 61-71.

**AL-HASSEN, M, M., ABDELLAH, M, R., ELBAUOMY, E, E, M., SADIEK, A, H., 2012.** Comparatives studies of different serological tests for diagnosis of brucellosis in vaccinated sheep with special reference to competitive ELISA. Veterinary research. 5(2) : 31-36.

**ALDOMY, F., ALKHAWALDEH, M, YOUNIS, I, B., 2009.** Immune responses of goats (shami breed) to vaccination with a full, reduced and conjonctival dose of Brucevac (*Brucella melitensis* Rev1 strain) vaccine. Pakistan Vet J. 29(4) : 149-153.

**ALJ-DEBBARH., ZYGMUNT, M, S., DUBRAY, G., CLOECKAERT., 1996.** Competitive enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to the brucella melitensis BP 26 protein to evaluate antibody responses in infected and B.melitensis Rev1 vaccinated sheep. Veterinary microbiology. (53) : 325-337.

**ANONYME(a), 2004.** La brucellose animale. Polycopié des Ecoles Nationales Vétérinaires Française unités de pathologies infectieuses. 45p.

**ANONYME(b), 2001.** Brucellosis in sheep and goat (*Brucella melitensis*). Report of scientific commitee on animal health and animal welfare. 89p.

**ANONYME(c), 1997.** Brucellosis : an overview. 1st international conference on emerging zoonoses. Emerging infectious diseases. (3) :213-221.

**ANONYME(d), 2011.** Bulletin sanitaire vétérinaire. Direction des services vétérinaires. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

**ANONYME(e), 1986.** Expert committee on Brucellosis. 6<sup>th</sup> Report.

**ANONYME(f), 2008.** Manuel of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Volume 2. 6<sup>e</sup> ed. Ed. copyright OIE. Paris 1343p.

**ANONYME(g), 2011.** Generic guidelines for disease control. AHG epidemiology. Appendix III. 24-28.

**ANONYME(h), 2009.** Brucella melitensis in Eurasia and the Middle East. FAO Animal production and health. Rome. 52p.

**ANONYME(i), 2008.** Brucellose caprine et ovine in code sanitaire pour les animaux terrestres. Vol.2. 17<sup>e</sup> ed. Ed. OMS Animale. Paris. 697p.

**ANONYME(j), 1997.** The development of new/improved brucellosis vaccines : report of WHO meeting. WHO/EMC/ZDI. 47p.

**ANONYME(k), 1977.** Production des vaccins antibrucelliques. [http://whqlibdoc.who.int/publications/1977/9242400556\\_\(chp4\).pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/1977/9242400556_(chp4).pdf)

**ANONYME(l), 2005.** Brucellosis vaccine (live) (Brucella melitensis Rev1 strain), freeze-dried for veterinary use. European pharmacopoeia . Pp 735.

**ANONYME(m), 2003.** [http://ec.europa.eu/research/rtdinfo/39/01/print\\_article\\_303\\_fr.html](http://ec.europa.eu/research/rtdinfo/39/01/print_article_303_fr.html)

**AKAKPO, A, J., TEK0-AGBO, A., KONE, P., 2009.** L'impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique. Conf OIE. 71-84.

**ARELLANO-REYNOSO, B., LAPAQUE, N., SALCEDO, S., BRIONES, G., CIOCCHINI, A, E., UGALDE, R., MORENO, E., MORIYON, I., GORVEL, J, P., 2005.** Cyclic  $\beta$ -1,2-glucan is a brucella virulence factor required for intracellular survival. Nature immunology. (6) : 618-625.

**AVRIL, J, L., 1997.** Nouveau dictionnaire de bactériologie clinique. Ed. Ellipses. Paris. 156p.

**BANAI, M., CORBEL, M., 2010.** The Open Veterinary Science Journal. 4 : 85-101.

**BANAI, M., 2002.** Control of small ruminant brucellosis by use of Brucella melitensis Rev 1 vaccine : laboratory aspects and field observation. Veterinary microbiology. (90) : 497-519.

**BARDENSTEIN, S., MANDELBOIM, M., FICHT, T, A., BAUM, M., BANAI, M., 2002.** Identification of *Brucella melitensis* vaccine strain Rev1 in Animals and Humans in Israel by PCR analysis of the PstI site polymorphism of Its omp2 gene. Journal of clinical microbiology. Vol 40. (4) : 1475-1480.

**BARIO, M, B., GRILLO, M, G., MUNOZ, P, M., JACQUES, I., GONZALEZ, D., DE MIGUEL, M, J., MARIN, C, M., BARBERAN, M., LETESSON, J, J., GORVEL, J, P., MORIYON, I., BLASCO, J, M., ZYGMUNT, M, S., 2008.** Rough mutants defective in core and O-polysaccharide synthesis and export induce antibodies reacting in an indirect ELISA with smooth lipopolysaccharide and are less effective than Rev1 vaccine against *Brucella melitensis* infection of sheep. Vaccine. (27) : 1741-1749.

**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. 20(3) : 757-767.

**BERCOVICH, Z., GULER, L., BAYSAL, T., SCHREUDER, B, E, C., VAN ZIJDERVELD, F, G., 1998.** Evaluation of the currently used diagnostic procedures for the detection of *Brucella melitensis* in sheep. Small Ruminant Research. (31) : 1-6.

**BICKER, B, J., 2002.** PCR as a diagnostic tool for brucellosis. Veterinary microbiology. (90) :435-446.

**BLANCOU, J., CHOMEL, B, B., BELOTTO , A., MESLIN, F, X., 2005.** Emerging or re-emerging bacterial zoonoses : factors of emergences, surveillance and control. Vet Res. 36 : 507-522.

**BLASCO, J, M., MARIN, C., JIMENEZ DE BAGUES, M., BARBERON, M., HERNANDEZ, A., MOLINA, L., VELASCO, J., DIAZ, R., MORIYON, I., 1994.** Evaluation of allergic and serological tests for diagnosing *Brucella melitensis* infection in sheep. Journal of clinical microbiology. 32(8) : 1835-1840.

**BLASCO, J, M., 2005.** Existing and future vaccines against brucellosis in small ruminants. Small ruminants research. (62) : 33-37.

**BLASCO, J, M., 2010.** Contrôle and eradication stratégies for *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. Contributions : Sec.Biol.Med.Sci. 145-155.

**BOSSI, P., TEGNELL, A., BAKA, A., VAN LOOCK, F., HENDRICKS, J., WERNER, A., MAIDHOF, H., GOUVRAS, G., 2004.** Recommandation Bichat sur la prise en charge clinique des patients présentant une brucellose liée ou non à un acte de bioterrorisme. *Eurosurveillance*. 9(12) : 1-7.

**BOULLIER, S., BERTAGNOLI, S, 2002.** La vaccination. *Le nouveau praticien vétérinaire*. (7) : 73-76.

**CARTER, G, R., COLE, J, R., 1990.** Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology. 5<sup>e</sup> ed. Ed. Academic Press Inc. United KingKdom. 620p.

**CELLI, J., 2005.** Surviving inside a macrophage : the many ways of *Brucella*. *Research in microbiology*. (157) : 93-98.

**CHAKROUN, M., BOUZOUAIA, N., 2007.** La brucellose : une zoonose toujours d'actualité. *Rev tun infectiol*. Vol.1. (2) : 1-10.

**CHRISTOPHER, S., UMAPATHY, B, L., RAVIKUMAR, K, L., 2010.** Brucellosis : review on recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. *Journal of laboratory physicians*. Vol. 2 : 55-60.

**COMMANDER, N, J., SPENCER, S, A., WREN, B, W., MACMILLAN, A, P., 2007.** The identification of two protective DNA vaccines from a panel of five plasmid constructs encoding *Brucella melitensis* 16 M genes. *Vaccine* (25) : 43-54.

**CORBEL, M, J., 1997.** Recent advances in brucellosis. *J. Med. Microbiol*. 46 : 101-103

**DELGADO, S., CARMENES, P., FERNANDEZ, M., 1995.** Seroprevalences and lack of abortions after vaccination of churra sheep with reduced doses of Rev1 *Brucella melitensis* vaccine by subcutaneous or conjunctival routes. *Preventive veterinary medicine*. (23) : 153-161.

**DELGADO, S., FERNANDEZ, M., CARMENES, P., 1995.** Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of sheep infected and vaccinated with *Brucella melitensis*. *J Vet Diagn Invest*. (7) :206-209.

**DELVECCHIO, V, G., KAPATRAL, V., ELZER, P., PATRA, G., MUJER, C, V., 2002.** *Veterinary Microbiology*. 90 : 587-592.

**DESACHY, F., 2005.** Les zoonoses : transmission des maladies des animaux à l'homme. Ed. Devecchi. Paris. 180p

**DSV, 2012.** Bulletin sanitaire vétérinaire. Direction des services vétérinaires. Ministère de l'agriculture et du développement rural.

**EL IDRISSE, A, H., BENKIRANE, A., EL MAADOUDI, M., BOUSLIKHANE, M., BERRADA, J., ZEROUALI, A., 2001.** Comparaison of *Brucella abortus* strain RB51 and *Brucella melitensis* Rev1 lives vaccines against experimental infection with *Brucella melitensis* in pregnant ewes. Rev.sci.tech.off.int.Epiz. 20(3) : 741-747.

**ELSHAMY, M., AHMED, A, L., 2008.** The effects of maternal brucellosis in pregnancy outcome. J infect developing countries. 2(3) : 230-234.

**FEDIAEVSKY, A., GARIN-BASTUJI, B., MOUTOU, F., 2009.** Bilan de la surveillance de la brucellose ovine et caprine en 2009 : la surveillance n'est pas toujours adaptée dans un contexte épidémiologique favorable. Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation. (40) : 28-31.

**FERREIRA, A, C., CARDOSO, R., TRAVASSOS DIAS, I., MARIANO, I., BELO, A., ROLAO PRETO, I., MANTEIGAS, A., FONCECA, A, P., CORREA DE SA, M, I., 2003.** Evaluation of a modified Rose bengal test and an indirect Enzyme- Linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. Vet Res. (34) : 297-305.

**FICHT, T., 2010.** Brucella taxonomy and evolution. Future Microbiol. 5(6) : 859-866.

**FRANCO, M, P., MULDER, M., GILMAN, R, H., SMITS, H, L., 2007.** Lancet Infect Dis. (7) : 775-786.

**GARIN-BASTUJI, B., BLASCO, J, M., MARIN, C., ALBERT, D., 2006.** The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. Small ruminants research. (62) : 63-70.

**GARIN-BASTUJI, B., BLASCO, J, M., GRAYON, M., VERGER, J-M., 1998.** Brucella melitensis infection in sheep : present and future. Vet Res. (29) : 255-274.

**Garin-Bastuji., 2007.** Brucellose ovine et caprine Histoire de l'éradication en France situation dans l'Union Européenne. XIII Mesa caprine nacional. [http://64.76.123.202/site/ganaderia/caprinos/05-informacion\\_caprina/\\_archivos/000003-](http://64.76.123.202/site/ganaderia/caprinos/05-informacion_caprina/_archivos/000003-)

[Sanidad%20Caprina/000030\\_Erradicaci%C3%B3n%20de%20Brucelosis%20en%20Francia.pdf](#)

**GODFROID, J., CLOECKAERT, A., LIAUTARD, J-P., KOHLER, S., FRETIN, D., WALRAVENS, K., GARIN-BASTUJI, B., LETESSON, J-J., 2005.** From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res.* 36 : 313-326.

**GODFOID, J., SCHOLZ, H, C., BARBIER, T., NICOLAS, C., WATTIAU, P., FRETIN, D., WHATMORE, A, M., CLOECKERT, A., BLASCO, J, M., MORIYON, I., SAEGERMAN, C., MUMA, J, B., AL DAHOUK, S., NEUBAUER, H., LETESSON, J, J., 2011.** Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21 st century. *Preventive veterinary medicine.* 14p.

**GODFOID, J., NIELSEN, K., SAEGERMAN, C., 2010.** Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croat Med J.* (51) : 296-305.

**GROSJEAN, J., CLAVE, D., ARCHAMBAUD, M., PASQUIER, C., 2009.** Bactériologie et virologie pratique. Ed. de Boeck. 1<sup>ère</sup> ed. Bruxelles. 283p.

**GUL, S, T., KHAN, A., 2007.** Epidemiology and epizotology of brucellosis : a review. *Pakistan vet.j.* 27(3) : 145-151.

**GUPTA, V, A., KUMARI, R., VOHRA, J., SINGH, V, S., 2010.** Comparative evaluation of recombinant BP26 protein for serological diagnosis of *brucella melitensis* infection in goats

**ILHAN, Z., SOLMAZ, H., AKSAKAL, A., GULHAN, T., IKIN, I, H., BOYNUKARA., B., 2008.** Detection of *Brucella melitensis* DNA in the milk of sheep after abortion by PCR assay. *Arch Med Vet.* (40) : 141-146.

**INSP, 2009.** Relevés épidémiologiques mensuels. Institut National de la Santé Publique.

**JACQUES, I., OLIVIER-BERNARDIN, V., DUBRAY, G., 1998.** Efficacy of ELISA compared to conventional tests (RBPT and CFT) for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. *Veterinary microbiology.* (64) : 61-73.

**JIMENEZ DE BAGUES, M, P., MARIN, C, M., BARBERAN, M., BLASCO, J, M., 1989.** Responses of ewes to B.melitensis Rev1 vaccine administered subcutaneous or conjunctival routes at difference stages of pregnancy. Ann Rech Vet. (20) : 213-215.

**JORA, 2006.** Article 2 du décret exécutif n°96-66. Journal officiel de la république algérienne N°16.

**KO, J., SPLITTER, G, A., 2003.** Molecular Host-pathogen interaction in brucellosis : current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. Clinical microbiology reviews. Vol. 16, No. 1. Pp 65-78.

**KRIEG, N, R., HOLT, J, G., 1984.** Bergey's manual of systematic bacteriology. Ed. Williams and Wilkins. Baltimore. 964p.

**LARPENT, J, P., GOURGAUD, M, L., 1997.** Memento technique de microbiologie. Ed. Lavoisier TEC et DOC. Londre-New York-Paris. 1039p.

**LEFEVRE, P, C., BLANCOU, J., CHERMETTE, R., 2003.** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail (Europe et régions chaudes) tome 2 : maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaire. Ed. TEC and DOC. Paris. 1761p.

**LE MOINE, C, A, M, C., 2009.** Vaccins et vaccination chez les ovins. Thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. 141p.

**LOUNES, N., 2007.** Séroprévalence de la brucellose animale dans la région centre et impact sur la santé publique. Mémoire pour l'obtention d'un Magistère en sciences vétérinaires. Université Saad Dahleb Blida.

**LUBORTH, J., RWEYEMAMU, M, M., VILJOEN, G., DIALLO, A., DANGU, B., AMANFU, W., 2007.** Veterinary vaccine and their use in developing countries. Rev sci tech off int Epiz. 26(1) : 179-201.

**MANTUR, B, G., AMARNATH, S,K., 2008.** Brucellosis in India : a review. J. Biosci. 33 : 539-547.

**MARIN, C, M., MORENO, E., MORIYON, I., DIAZ, R., BLASCO, J, M., 1999.** Performance of competitive and indirect enzyme linked immunosorbent assays, gel immunoprecipitation with native hapten polysaccharide, and standard serological tests in

diagnosis of sheep brucellosis. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 6(2) : 269-272.

**MARTIN, R, D, C., IRACHE, J, M., GAMAZO, C., 2012.** Acellular vaccines for ovine brucellosis : a safer alternative against a worldwide disease. *Expert Rev vaccines*. 11(1) : 87-95.

**MAURIN, M., 2005.** La brucellose à l'aube du 21<sup>e</sup> siècle. *Médecine et maladies infectieuses*. 35 :6-12.

**MEDJITNA, T. D.E., STADLER, C., BRUCKNER, L., GRIOT, C., OTTIGER, H. P., 2006.** DNA Vaccines: Safety Aspect Assessment and Regulation. *New Diagnostic Technology: Application in Animal Health and Biologic Control*. (126):261-270.

**MEGID, J., MATHIAS, L, A., ROBLES, C, A.,2010.** Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and Humans. *The open veterinary science journal*. (4) : 119-126.

**MICHAUX-CHARACHON, S., FOULONGNE, V., O'CHALLAGHAN, D., RAMUZ, M., 2002.** *Brucella* à l'aube du troisième millénaire : organisation du génome et pouvoir pathogène. *Pathol Biol*. 50 :401-412.

**MINAS, A., STOURNARA, A., CHRISTODOULOPOULOS, G., KATSOULOS, P, D., 2008.** Validation of a competitive ELISA for diagnosis of *Brucella melitensis* in sheep and goats. *The veterinary journal*. (177) : 411-417.

**MORENO, E., CLOECKAERT, A., MORYON, I., 2002.** *Brucella* evolution and taxonomy. *Veterinary Microbiology*. 90 : 209-227.

**MORIYON, I., GRILLO, M, J., MONREAL, D., GONZALEZ, D., MARIN, C., LOPEZ-GONI, I., MAINER-JAIME, R, C., MORENO, E., BLASCO, J, M., 2004.** Rough vaccines in animal brucellosis : structural and genetic basis and present status. (35) : 1-38.

**NAUCIEL, C., VILDE, J, L., 2005.** *Bactériologie médicale*. 2<sup>e</sup> ed. Ed. Paris. 257p.

**NETO, F., VAZ, Y., 2002.** Conjunctival rev1 vaccination of adult sheep and goats in Tras-Os-Montes, Portugal. *Epidémiol et santé anim*. (42) : 99-107.

**NICOLETTI, P., 2002.** A short history of brucellosis. *Veterinary Microbiology*. 90 : 25-9.

**NICOLETTI, P., 2010.** Brucellosis : past, present and future. Contributions : Sec.Biol.Med.Sci. 21-32.

**PAPPAS, G., PAPADIMITRIOU, P., 2007.** Challenges in brucella bacteraemia. International journal of antimicrobial agents. Pp 29-31.

**PAPPAS, G., SOLERA, J., AKRITIDIS, N., TSIANOS, E., 2005.** New approaches to the antibiotic treatment of brucellosis. International journal of antimicrobial agents. (26) : 101-105.

**PICOUX, J, B., 2004.** Maladies des moutons. 2<sup>e</sup> ed. Ed. France agricole. Paris. 287p.

**PISHVA, E., SALEHI, M., 2008.** First report of isolation of *Brucella melitensis* vaccine strain Rev1 as a source of cattle infection in iran. Journal of sciences islamic republic of Iran. 19(1) : 19-23.

**POESTER, F, P., NIELSEN, K., SAMARTINO, L, E., YU, W, L., 2010.** Diagnosis of brucellosis. The open veterinary science journal. (4) : 46-60.

**PRESCOTT., HARLEY., KLEIN., 2003.** Microbiologie. Ed. de Boeck. 2<sup>e</sup> ed. Bruxelles. 1137p.JABFP. 15(5) : 401-406.

**REBOUL, A., 2009.** Etude de protéines bactériennes « Eukaryotic-like » de *Brucella suis*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes. 31p.

**ROBINSON, A., 2003.** Guidelines for coordinated human and animal brucellosis surveillance. Ed. FAO Animal production and health paper. Rome. 46p.

**SAURET, J, M., VILISSOUVA., N., 2002.** Human brucellosis. Medical practice. (15) :401-406.

**SCHURING, G, G., SRIRANGANATHAN, N., CORBEL, M, J., 2002.** Brucellosis vaccines : past, present and future. Veterinary microbiology. (90) : 497-496.

**SELEEM, M, N., Boyle, S, M., SRIRANGANATHAN, N., 2009.** Brucellosis : a re-emerging zoonosis. Veterinary Microbiology. 140 : 392-398.

**SERGIO, C, O. , GILSON, C, M., LEONARDO, A, A., FERNANDA, S, O., ANGEL, O., JULIANA, C., GUILLERMO, H, G., 2010.** Recent advances in understanding immunity

against brucellosis : Application for vaccine development. The open veterinary science journal. 4 :102-108.

**SINGLETON, P., 2005.** Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. Ed. Dunod. 6<sup>e</sup> ed. Paris. 542p.

**SMITS, H, L., CUTLER, S, J., 2004.** Contributions of biotechnology to the control and prevention of brucellosis in Africa. African journal of biotechnology. Vol 3. (12) : 631-636.

**SPICER, W, J., 2003.** Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Ed. medecine-sciences Flammarion. Paris. 221p.

**STARR, T., NG, T, W., WEHRLY, T, D., KNODLER, L, A., CELLI, J., 2008.** Brucella intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment. Traffic. (9) : 678-694.

**STOURNARA, A., MINAS, A., BOURTZI-CHATZOPOULOU, E., STACK, J, KOPTOPOULOS, G., PETRIDOU, E., SARRIS, K., 2007.** Assessment of serological response of young and adult sheep to conjunctival vaccination with Rev1 vaccine by fluorescence polarization assay (FPA) and other serological tests for B.melitensis. veterinary microbiology. (119) : 53-64.

**TORTORA., FUNKE., CASE., 2003.** Introduction à la microbiologie. Ed. ERPI. Quebec. 945p.

**TORTORA., GERARD, J., CASE, C, L., FUNKE, B, R., 2010.** Microbiology : an introduction. San Francisco, Boston, Paris. 10<sup>e</sup> ed. 956p.

**WATARAI, M., MAKINO, S., FUJII, Y., OKAMOTO, K., SHIRAHATA, T.,2002.** Modulation of Brucella induced macropinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication. Cellular microbiology. 4(6) : 341-355.

**XAVIER, M, N., PAIXAO, T, A., DEN HARTIGH, A, B., TSOLIS, R, M., SANTOS, R, M., 2010.** Pathogenesis of Brucella spp. The open veterinary science journal. (4) : 109-118.

[http://web.oie.int/wahis/public.php?page=country\\_zoonoses](http://web.oie.int/wahis/public.php?page=country_zoonoses)

**ZUNDEL, E., VERGER, J, M., GRAYON, M., MICHEL, R., 1992.** Conjunctival vaccination of pregnant ewes and goats with *Brucella melitensis* Rev1 vaccine : safety and serological responses. Ann Rech Vet. (23) : 177-188.

# **«*Annexes*»**

# *Annexe I*

Vu le décret présidentiel n° 05-161 du 22 Rabie El Aouel 1426 correspondant au 1er mai 2005 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, fixant les conditions d'exercice à titre privé des activités de médecine vétérinaire et de chirurgie des animaux ;

Vu le décret exécutif n° 90-12 du 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du ministre de l'agriculture ;

Vu le décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;

#### Décète :

Article 1er. — Le présent décret a pour objet de modifier et compléter les dispositions du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé.

Art. 2. — Les dispositions de l'article 2 du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé, sont modifiées et complétées comme suit :

“Art. 2. — Les maladies animales à déclaration obligatoire sont les suivantes :

- La fièvre aphteuse ;
- La peste bovine ;
- La peste équine ;
- La péripneumonie contagieuse bovine ;
- La rage chez toutes les espèces ;
- La clavelée et la variole caprine ;
- La maladie de Newcastle ;
- L'influenza aviaire ;
- La fièvre charbonneuse chez toutes les espèces de mammifères ;
- La fièvre catarrhale du mouton ;
- La tuberculose bovine ;
- La brucellose dans les espèces bovine, ovine, caprine et cameline ;
- L'anémie infectieuse des équidés ;
- La métrite contagieuse équine ;
- La dourine ;
- La morve ;
- La rhinotrachéite infectieuse bovine ;
- La leucose bovine enzootique ;
- La myiase à *Cochliomyia Hominivorax* ;
- La myiase à *Chrysomya Bezziana* ;
- La campylobactériose génitale bovine ;
- La trichomonose bovine ;
- L'échinococcose/hydatidose ;
- La cysticercose ;
- Le charbon symptomatique ;
- L'avortement enzootique des brebis ;

- La gale des équidés ;
- La paratuberculose ;
- La fièvre Q ;
- La leptospirose bovine ;
- La bronchite infectieuse aviaire ;
- La maladie de Marek ;
- Le choléra aviaire ;
- La bursite infectieuse (maladie de Gumboro) ;
- La variole aviaire ;
- L'ornithose/psittacose ;
- les leucoses aviaires ;
- La myxomatose ;
- La maladie hémorragique virale du lapin ;
- La tularémie ;
- La varroase des abeilles ;
- La loque européenne ;
- La loque américaine ;
- La nosébose ;
- L'acariose des abeilles (acarapisose) ;
- L'infestation des abeilles par l'acarien *Tropilaelaps* ;
- L'infestation de la ruche par le coléoptère *Aethina Tumida* ou “ petit scarabée de la ruche ” ;
- La variole cameline ;
- La trypanosomose des camelins à *T. evansi* (surra) ;
- la trypanosomose (transmise par la mouche tsé-tsé) ;
- La leishmaniose ;
- La peste des petits ruminants ;
- L'encéphalopathie spongiforme des bovins ;
- La fièvre de la vallée du Rift ;
- Les Salmonelloses aviaires à *Salmonella Enteritidis*, *Typhimurium*, *Arizona*, *Dublin*, *Paratyphi* et *Pullorum Gallinarum* ;
- La tremblante ;
- Les encéphalites équines sous toutes leurs formes ;
- Les salmonelloses bovines ;
- La listériose ;
- La rhinopneumonie des équidés ;
- La maedi-Visna ;
- La piroplasmose ;
- La babésiose bovine ;
- L'encéphalomyélite aviaire ;
- La rhinotrachéite infectieuse aviaire ;
- L'entérite hémorragique de la dinde ;
- Le coryza gangréneux ;
- L'adénomatose pulmonaire ovine ;
- La maladie de Nairobi ;
- La salmonellose ovine (*S. abortusovis*) ;
- L'épididymite ovine (*Brucella ovis*) ;
- L'entérite virale du canard ;
- L'hépatite virale du canard ;
- La toxoplasmose ;
- La lymphangite épizootique ;

# *Annexe II*



## **Annexe III : Fiche descriptive des élevages**

### **Elevage I (Remchi)**

**Taille de l'élevage :** Petit (27 têtes)

**Mode de l'élevage :** Intensif

**Antécédents d'avortement :** Non

**Antécédents de Brucellose :** Non

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins :** Non

**Présence d'autres espèces animales :** Non

**Introduction de nouveaux animaux :** Non

**Pâturage en commun avec d'autres élevages :** Non

**Mode d'abreuvement :** Sonde

**Désinfection des locaux :** Oui

**Soins vétérinaires :** Oui

**Déparasitage :** 15 à 20 jours avant le premier prélèvement

**Vaccination enterotoxémie :** 10 à 15 jours avant le premier prélèvement

## **Elevage II (Remchi)**

**Taille de l'élevage :** Petit (23 têtes)

**Mode de l'élevage :** Intensif

**Antécédents d'avortement :** Non

**Antécédents de Brucellose :** Non

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins :** Non

**Présence d'autres espèces animales :** Non

**Introduction de nouveaux animaux :** Oui

**Pâturage en commun avec d'autres élevages :** Non

**Mode d'abreuvement :** Sonde

**Désinfection des locaux :** Oui

**Soins vétérinaires :** Oui

**Déparasitage :** Un mois et demi avant le premier prélèvement

**Vaccination enterotoxémie :** Un mois et demi avant le premier prélèvement

### **Elevage III (Maghnia)**

**Taille de l'élevage :** 1000 têtes

**Mode de l'élevage :** Extensif

**Antécédents d'avortement :** Oui

**Antécédents de Brucellose :** Non

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins :** Non

**Présence d'autres espèces animales :** Oui : Bovins, chiens

**Introduction de nouveaux animaux :** Non

**Pâturage en commun avec d'autre élevages :** Oui

**Mode d'abreuvement :** Sonde

**Désinfection des locaux :** Non

**Soins vétérinaires :** Oui

**Déparasitage :** Deux mois avant le premier prélèvement

## **Elevage IV (Nedrouma)**

**Taille de l'élevage : 75**

**Mode de l'élevage : Extensif**

**Antécédents d'avortement : Oui**

**Antécédents de Brucellose : Non**

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins : Non**

**Présence d'autres espèces animales : Oui : espèce canine**

**Introduction de nouveaux animaux : Non**

**Pâturage en commun avec d'autres élevages : Oui**

**Mode d'abreuvement : Robinet**

**Désinfection des locaux : Non**

**Soins vétérinaires : Oui**

**Déparasitage : Un mois avant le premier prélèvement**

## **Elevage V (Nedrouma)**

**Taille de l'élevage :** 100

**Mode de l'élevage :** Extensif

**Antécédents d'avortement :** Oui

**Antécédents de Brucellose :** Non

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins :** Non

**Présence d'autres espèces animales :** Oui : espèce canine

**Introduction de nouveaux animaux :** Non

**Pâturage en commun avec d'autres élevages :** Oui

**Mode d'abreuvement :** Robinet, rivière.

**Désinfection des locaux :** Non

**Soins vétérinaires :** Non

**Déparasitage :** Non

## **Elevage VI (Nedrouma)**

**Taille de l'élevage : 70**

**Mode de l'élevage : Extensif**

**Antécédents d'avortement : Non**

**Antécédents de Brucellose : Non**

**Présence de cas de brucellose dans les élevages voisins : Non**

**Présence d'autres espèces animales : Oui : espèce canine**

**Introduction de nouveaux animaux : Oui**

**Pâturage en commun avec d'autres élevages : Oui**

**Mode d'abreuvement : Robinet, rivière.**

**Désinfection des locaux : Non**

**Soins vétérinaires : Non**

**Déparasitage : Non**

## Annexe IV : Tableau présentant l'âge et le sexe de chaque animal prélevé répartie par élevage

### Elevage I (Remchi)

N° d'identification	Race	Sexe	Age
1	OV	M	<1ans
2	OV	M	<1ans
3	OV	M	<1ans
4	OV	F	<1ans
5	OV	M	<1ans
6	OV	M	<1ans
7	OV	M	<1ans
8	OV	M	<1ans
9	OV	M	<1ans
10	OV	M	<1ans
12	OV	M	<1ans
13	OV	M	<1ans
14	OV	M	<1ans
15	OV	M	<1ans
16	OV	M	<1ans
17	OV	M	<1ans
18	OV	M	<1ans
19	OV	M	<1ans
20	OV	M	<1ans
22	OV	M	<1ans
23	OV	M	<1ans
24	OV	M	<1ans
26	OV	M	2 ans

## Elevage II (Remchi)

<b>N° d'identification</b>	<b>Race</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
1	OV	F	1ans
2	OV	F	4ans
3	OV	F	8mois
4	OV	F	5mois
5	OV	F	4mois
6	OV	F	5mois
7	OV	F	4mois
8	OV	F	14mois
9	OV	F	14mois
10	OV	M	16mois
11	OV	M	15mois
12	OV	F	18mois
13	OV	M	16mois
14	OV	F	10mois
15	OV	F	1ans
16	OV	M	17mois
17	OV	F	5mois
18	OV	F	4mois
19	OV	F	4mois
20	OV	M	17mois
23	OV	F	5mois

### **Elevage III (Maghnia)**

<b>N° d'identification</b>	<b>Race</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
1	OV	F	4ans
2	OV	F	2ans
5	OV	F	3ans
6	OV	F	3ans
7	OV	F	8ans
11	OV	F	2ans
12	OV	F	2ans
13	OV	F	3ans
14	OV	F	3ans
15	OV	F	3ans
16	OV	F	1ans
17	OV	F	4ans
19	OV	F	3ans
20	OV	F	2ans
30	OV	F	1ans
35	OV	F	4ans
38	OV	F	1ans
40	OV	F	3ans
41	OV	F	5ans
44	OV	F	3ans
56	OV	F	2ans

## Elevage IV (Nedrouma)

<b>N° d'identification</b>	<b>Race</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
1	OV	M	5mois
2	OV	M	5mois
3	OV	F	3mois
4	OV	M	3mois
5	OV	F	3mois
6	OV	F	6mois
7	OV	M	4mois
8	OV	M	5mois
9	OV	M	3mois
11	ov	M	4mois
12	OV	F	3mois
13	OV	F	3mois
14	OV	F	4mois
15	OV	M	4mois
16	OV	M	5mois
18	OV	F	4mois
19	OV	M	2ans
20	OV	M	4mois
21	OV	M	5mois
22	OV	F	3mois
23	OV	F	4mois
24	OV	M	4mois

## Elevage V (Nedrouma)

N° d'identification	Race	Sexe	Age
26	OV	F	"+"5ans
27	OV	F	5ans
29	OV	F	5ans
30	OV	F	5ans
32	OV	F	5ans
35	OV	F	"+"5ans
37	OV	F	"+"5ans
44	OV	F	"+"5ans
48	OV	F	"+"5ans
55	OV	F	"+"5ans
56	OV	F	"+"5ans
59	OV	F	"+"5ans
60	OV	F	6mois
61	OV	M	6mois
62	OV	M	5mois
66	OV	F	"+"5ans
67	OV	M	5ans
68	OV	F	5ans
76	OV	M	5mois
77	OV	F	5mois
78	OV	F	"+"5ans
79	OV	F	"+"5ans
83	OV	M	6mois
85	OV	M	5mois
86	OV	M	4mois
91	OV	M	5mois
92	OV	F	5mois
98	OV	F	5mois
99	OV	M	5mois
101	OV	F	5mois
102	OV	F	"+"5ans
107	OV	F	5mois
108	OV	F	5mois
111	OV	F	5mois
113	OV	F	4ans

## Elevage VI (Nedrouma)

<b>N° d'identification</b>	<b>Race</b>	<b>Sexe</b>	<b>Age</b>
114	OV	F	3ans
115	OV	F	4ans
116	OV	M	5mois
117	OV	F	7mois
118	OV	M	4mois
119	OV	F	7mois
120	OV	F	1ans
121	OV	F	4mois
122	OV	F	1ans
123	OV	F	1ans
124	OV	M	8mois
125	OV	M	5mois
127	OV	F	"+"5ans
128	OV	M	6mois
129	OV	F	8mois
130	OV	F	5mois
131	OV	F	"+"5ans
132	OV	F	5ans
133	OV	M	1,5ans
134	OV	F	4ans
135	OV	F	"+"5ans
136	OV	M	6mois
137	OV	F	3ans
139	OV	M	6mois
140	OV	M	1,5ans
142	OV	F	3ans
143	OV	F	3ans
144	OV	F	3ans
146	OV	M	3mois
147	OV	F	5mois

148	OV	F	4ans
149	OV	F	1ans
150	OV	F	1ans
151	OV	F	"+"5ans
152	OV	F	6mois
153	OV	F	4mois
154	OV	M	4mois
156	OV	F	6mois
157	OV	F	8mois
158	OV	M	4mois
159	OV	M	6mois
160	OV	M	4ans
165	OV	F	5ans
166	OV	F	4mois

# *Annexe V*

## كوكلاراف

لقاح حي ضد الحمى الملطية عمره 1 REV عند الأغنام و المعز

### التركيبة :

لكل جرعة لقاح 32 ميكرو لتر  
بروسيلاميليتيميس (جرثومة حية) ..... 1 إلى 10.2<sup>9</sup> جزائيم.

### مقادير و طريقة الاستعمال :

طريق ملتحمي

بشكل اللقاح من جديد بتخفيض القرص المجدد ل 50 جرعة بمحتوى المذيب  
6, امل يحرك بعناية للحصول على محلول متجانس  
ككيف التطيرة على الفارورة التي تحتوي على المزيج المتعلق المشكل من جديد.  
وضع قطرة واحدة فوق الملتحمة او في الكيس اللتحمي  
تلقيح الحيوانات من 3 الى 5 اشهر من العمر.

### الخصائص :

كوكلاف يوفر التلقيح مولفقة مع لوائح مكافحة الحمى الملطية.

### دواعي الإستعمال:

الأغنام و المعز تمنيع ناشط ضد الحمى الملطية.

### موانع الإستعمال:

لا تحقن الإناث الحوامل أو خلال الإرضاع أو خلال الشهر ما قبل الصراع.

### إحتياطات اللإستعمال:

يجب تلقيح الحيوانات في صحة جيدة فقط

يجب إحترام شروط الطهارة.

يجب حرق اللقاح الغير مستعمل و المتبقي.

### إستعمال بيطري

موزع من طرف سيفا لافال الجزائر

AMM الجزائر 10.1.12.1026

# *Annexe VI*



## Résumé

Depuis la hausse importante des cas de brucellose humaine et animale, la campagne de vaccination en masse est apparue comme la meilleure option pour le contrôle de cette zoonose dans les régions endémiques.

L'étude a eu pour objectif l'évaluation de l'efficacité vaccinale du vaccin Coglarev® souche Rev1 chez l'espèce ovine dans la région de Tlemcen, ainsi que la mise au point sur la campagne de vaccination menée chaque année depuis 2006 en Algérie.

Les résultats obtenus montrent une bonne réponse sérologique des animaux vaccinés. Néanmoins, une perte de la couverture vaccinale a été notée pour certains sujets.

L'engagement des vétérinaires dans les campagnes de vaccination n'est pas suffisant et leur opinion vis-à-vis du vaccin est mitigée, leur implication doit donc être encouragée car ils jouent un rôle important dans la réussite du programme de lutte contre la brucellose.

**Mots clés :** Brucellose, zoonose, vaccination, vaccin *B.melitensis* souche Rev1, ELISA, EAT.

## Abstract

Since the significant increase in cases of human and animal brucellosis, mass vaccination happened to be the best option to control this zoonosis in endemic areas.

The aim of the study was the evaluation of vaccine efficacy of the vaccine coglarev® Rev1 strain on ovine species in the region of Tlemcen, and on the vaccination campaign conducted annually in Algeria since 2006 as well.

The results showed a good serological response of vaccinated animals results from this. However, a loss of the vaccine coverage for some subjects has been noticed.

The commitment of veterinarians in vaccination campaigns is not sufficient and their views regarding the vaccine are mixed, their involvement should be encouraged regarding the importance of the role they play in the success of the program against brucellosis.

**Keys words :** Brucellosis, zoonosis, vaccination, vaccine, *B.melitensis* Rev1 strain, ELISA, EAT

## ملخص

منذ الارتفاع الهام لحالات الحمى المالطية الانسانية والحيوانية برز التطعيم الشامل كأحسن وسيلة للتحكم في هذا المرض في المناطق الموبوءة.

الهدف من هذه الدراسة كان تقييم لقاح البروسلوز عند الأغنام في منطقة تلمسان من جهة, و حملة التلقيح التي تنظم سنويا في الجزائر منذ 2006 من جهة أخرى

النتائج المتحصل عليها تبين استجابة جيدة من الحيوانات الملقحة غير أن لوحظ فقدان التغطية التلقيحية لبعض الحيوانات.

إلتزام الأطباء البيطريين غير كافي في حملات التلقيح و وجهة نظرهم فيما يخص اللقاح سيئة لبعض منهم, لهذا ينبغي تشجيع مشاركتهم لأنهم يلعبون دورا هاما في نجاح برنامج مكافحة الحمى المالطية

**كلمات المفاتيح:** بروسلوز, زونوز, التلقيح, اللقاح, بروسلة ملتسس souche Rev1