République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure Vétérinaire

ENSV
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
ALGER

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

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Étude de la séroprévalence de l'infection à *Bartonella bovis* chez des bovins séropositifs à la Brucellose dans la région d'Alger.

Présenté par :

AIT HAMOU Amina

BARKATI Fella

Soutenu le : 28 septembre 2017

Devant le jury composé de:

- Président : **Dr LAMARI A**	Maitre Assistant A ENSV-Alger
- Promoteur : **Dr AZZAG N**	Maitre de conférences A ENSV-Alger
- Examinateur : **Dr DERDOUR S. Y**	Maitre Assistant A ENSV-Alger
- Examinateur : **Dr HAFSI F**	Maitre de conférences A ENSV-Alger

Année universitaire : 2016 – 2017

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier notre chère promotrice le **Dr AZZAG N.**

Merci madame de nous avoir donné l'opportunité de découvrir ce monde : monde de la microbiologie, le monde des bartonelles.
Merci de nous avoir aidées, d'avoir su nous rassurer à chaque fois que cela tournait en catastrophe
Vous trouverez ici l'expression de nos sincères reconnaissances et de notre plus profond respect.

Nous remercions **Melle BOULARIAS Gh.** Doctorante à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire pour son aide et sa gentillesse.

On adresse également nos remerciements aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.

Un immense merci à tous ceux et celles qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Ma très chère maman pour son dévouement, ses encouragements, sa bénédiction et ses prières qui m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études… Tu es ma force et ce que j'ai de plus cher dans ce monde.

La mémoire de mon défunt père qui, j'espère sera toujours fier de sa fille et veillera sur moi de là où il est.

Mon deuxième papa Karim**,** qui m'a toujours encouragée et a toujours fait en sorte que je ne manque de rien … Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation … Je t'aime.

Mon frère Boussaâd, **mes sœurs,** Maïssa, Serine et Malak…. J'espère que ce travail vous servira d'exemple pour vous surpasser… Je vous adore.

Mes meilleures amies : Fella et Rachida, sans qui, ces 5 années d'études auraient été fades et sans saveur … Merci pour tous les fous rires, les pleurs et les souvenirs que nous avons partagés… J'espère vous avoir comme amies pour le restant de ma vie … Je vous aime.

À toute ma famille et mes amis pour leur soutien permanent … Merci !

… Amina …

DEDICACES

Avant tout, ma plus grande reconnaissance va au **bon Dieu, le tout puissant**. Merci de m'avoir donné la chance d'exister, d'avoir croisé mon chemin avec ce domaine que j'aime tant, de m'avoir permis d'arriver jusqu'à là.

A **mes chers parents**, les prunelles de mes yeux, ma raison d'exister et ma raison de vivre… Tous les mots du monde ne pourront exprimer ma reconnaissance envers vous. Tout ce que j'ai pu achever et tout ce que j'achèverai à l'avenir sera grâce à vous et à votre soutien. Que Dieu vous garde.

A **ma sœur**, Fatma. **Mon grand** frère Billel et **mon très chère petit frère** Islam. Je vous aime plus que tout au monde.

A **toute ma famille** ; **mes grands parents**, que Dieu vous garde. Toutes **mes tantes**, **mon cher oncle**. Tous **mes cousins** et **cousines**, vous êtes mon bonheur et ma richesse.

A **mes meilleures amies**, Amina et Rachida, des sœurs que la vie m'a offert. Vous êtes le plus beau cadeau qu'une personne puisse avoir. J'espère qu'on restera unis pour le restant de la vie car sans vous, je ne saurai comment la vivre.

En la mémoire de ma défunte grand-mère, j'espère que tu es fière de ta petite fille.

… Fella …

LISTE DES ABREVIATION

ADH : Arginine Di-hydrolase

ADN: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

BadA : Bartonella adhesine A

Bep : Protéines effectrices de bartonelles

DSV : Direction des services vétérinaires

EAT : Epreuve à l'antigène tamponné

ECA : Epreuve Cutanée allergique

ELISA : Enzyme-linked Immunosorbent Assay

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

FC : Fixation du Complément

GR: Globule rouge

GroEL: La protéine de choc thermique

Hep 2: Cellules epitheliales type 2

HIF-1: Hypoxia inducible facteur -1

HSR : Hypersensibilité retardée

HUVEC: Human Umbelical Vein Endothelial Cells

IDR: Intradermoréaction

IgA : Immunoglobulines A

IgG1 : Immunoglobulines G1

IgM : Immunoglobulines M

INMV : Institut Nationale de la Médecine Vétérinaire

LPS : Lipopolysaccharide

ME : Moelle épinière

MGC: Maladie des griffes du chat

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

Omps : Protéines de la membrane externe

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS: Phosphate Buffer Saline

PCR: Polymerase chain reaction

RT: Ring Test

SIDA: Syndrome e l'Immunodéficience Acquise

SVF : Sérum de veau fœtal

TAAs: Trimeric Autotransporter Adhesin-Dependent Adherence

TD: Tube digestif

TLR4: Toll-like receptor 4

UV: Ultra Violet

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VIH: Virus de l'Imuunodéfidcience Humaine

Vomps : Variably expressed outer membrane proteins

VP : Voges–Proskauer

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Espèces et sous-espèces de *Bartonella*, hôtes principaux et vecteurs …… 09

Tableau 02 : Manifestations cliniques des infections à *Bartonella* chez l'homme …….. 19

Tableau 03 : Antibiotiques actifs *in vitro* et efficacité *in vivo* sur *Brucella spp.*…… 42

Tableau 04 : Facteurs de virulences de *Bartonella spp.* et *Brucella spp.* …… 48

Tableau 05 : Composition de culture pour les cellules Vero …….. 53

Tableau 06 : Barème de lecture des lames d'immunofluorescence ……. 54

Tableau 07 : Fréquence de la séropositivité et de la séronégativité des sérums analysés ……..… 58

Tableau 08 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coïnfection à *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* …… 59

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Evolution de la classification des bartonelles …… 04

Figure 02: (**A**) *Bartonella clarridgeiae*, (**B**) *Bartonella bacilliformis* observées sous microscope électronique …… 05

Figure 03: Culture de *B. henselae* sur gélose au sang …… 06

Figure 04: Distribution mondiale des espèces de *Bartonella* …… 07

Figure 05: Modèle du parasitisme des érythrocytes par *Bartonella* ……. 14

Figure 06: Immunofluorescence indirecte pour le diagnostic de l'infection à *Bartonella spp.* ……. 21

Figure 07: Vue de *Brucella spp.* par coloration de Gram …….. 26

Figure 08 : Vue agrandie de *Brucella abortus* microscopie à balayage …… 26

Figure 09 : *Brucella melitensis* sur gélose chocolat ……. 27

Figure 10: Avorton de buffle suite à une infection par *Brucella abortus.* ……. 35

Figure 11 : Nécrose du testicule (droit) chez un taureau atteint d'une orchite unilatérale suite à une infection par *Brucella abortus.* ……. 37

Figure 12 : Observation microscopique de *Brucella* après coloration de Stamp ……... 38

Figure 13 : Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose …… 44

Figure 14 : Classification simplifiée des deux familles : *Bartonellaceae* et *Brucellaceae*...46

Figure 15 : Matériel utilisé dans la technique d'immunofluorescence indirecte …….. 51

Figure 16 : Les lames d'immunofluorescence utilisées ……..... 52

Figure 17 : Schéma illustrant le principe de la technique d'IFI ……. 55

Figure 18 : Séroprévalence des coïnfections à *Brucella spp.* et *Bartonella bovis.* ..…… 59

Figure 19 : séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction de l'âge ……... 60

Figure 20 : séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction du sexe …… 60

Figure 21 : séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction de la race …… 61

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 2

PARTIE 01 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : *Bartonella spp.*

I. HISTORIQUE 1
II. TAXONOMIE 3
III. BACTERIOLOGIE 4
III.1. Caractères morphologiques 4
III.2. Caractères culturaux 5
III.3. Caractères biochimiques 5
IV. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DE LA BARTONELLOSE 6
IV.1. Répartition géographique 6
IV.2. Espèces affectées et réservoirs 7
IV.3. Mode de transmission 9
IV.3.1 Transmission vectorisée 9
IV.3.2. Transmission non vectorisée 10
V. PATHOGENIE DES INFECTIONS A *BARTONELLA* 11
V.1. Parasitisme des érythrocytes 11
V.1.1. Adhésion 11
V.1.2. Invasion 12
V.2. Colonisation des cellules endothéliales et des autres cellules nucléées 13
V.2.1. Adhésion 13
V.2.2. Invasion 14
V.2.3. Angiogénèse 14
V.3. Colonisation d'autres cellules 14
V.4. Facteurs du pouvoir pathogène 15
- Flagelle 15
- Pili 15
- Autotransporteurs trimétriques adhésines(BadA,Vomps) 15

- Déformine 15
- Facteur angiogène 15
- LPS 15
- Autres 15

VI. ETUDE CLINIQUE DE LA BARTONELLOSE 16

VI.1. Etude clinique chez les bovins 16

VI.2. Etude clinique chez les autres espèces 16

VI.3. Etude clinique chez l'homme 18

VII. DIAGNOSTIC 19

VII.1. Culture bactérienne 19

VII.2. Sérologique 19

VII.2.1. ELISA OU ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY 19

VII.2.2. IFI 20

VII.3. Biologie moléculaire ou amplification PCR 20

VIII. TRAITEMENT 21

VIII.1. Chez les animaux 21

VIII.2. Chez l'homme 22

IX. PROPHYLAXIE DES INFECTIONS A *BARTONELLA* 22

CHAPITRE II : *Brucella spp.*

I. HISTORIQUE 24

II. TAXONOMIE 25

III. BACTERIOLOGIE 26

III.1. Caractères morphologiques 26

III.2. Caractères culturaux 26

III.3. Caractères biochimiques 27

IV. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE 28

IV.1. Répartition géographique 28

IV.2. Brucellose bovine en Algérie 28

IV.3. Espèces affectées et réservoirs 29

IV.4. Sources de contagion 30

IV.5. Mode de transmission 32

IV.5.1. Transmission de la brucellose entre animaux 32

IV.5.2. Transmission de l'animal à l'homme 32

V. PATHOGENIE 33

V.1. Période primaire : 33

V.2. Période secondaire : 33
V.3. Pathogénie de l'avortement lors d'atteinte à Brucella 34
VI. ETUDE CLINIQUE CHEZ LES BOVINS 34
VI.1. Espèces de *Brucella* en cause 34
VI.2. Durée d'incubation et symptômes 35
VI.2.1. Chez la femelle 35
VI.2.2. Chez le mâle 36
VII. DIAGNOSTIC 37
VII.1. Diagnostic clinique 37
VII.2. Diagnostic expérimental 37
VII.2.1. Examen direct 38
VII.2.2. Examen indirect 39
VIII. TRAITEMENT 41
VIII.1. Brucellose bovine 41
VIII.2. Brucellose humaine 42
IX. PROPHYLAXIE 43

CHAPITRE 03 : *Bartonella spp.* et *Brucella spp.* : Armes communes d'attaque

PARTIE 02 : PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE 53
II. MATERIEL ET METHODE 54
II.1. Nature des prélèvements 54
II.2. Matériel utilisé 54
II.3. Fabrication des lames de *Bartonella* 55
II.3.1. Technique de fabrication des lames de Bartonella 56
II. 3.2. Lecture des lames 57
II.3.3. Analyses statistiques 58
II.4. Analyse des prélèvements par l'IFI (Immunofluorescence indirecte) 58
II.4.1. Principe et avantages de l'IFI : (voir figure) 58
II.4.2. Technique 59

CHAPITRE II: Résultats

I. Résultats .....**Erreur ! Signet non défini.**

II. Étude de la séroprévalence de l'association de l'infection par *Bartonella bovis* et *Brucella spp.* ……**Erreur ! Signet non défini.**

III. Étude des facteurs de risque associés à l'infection simultanée par *Brucella* spp. et *Bartonella bovis* ……**Erreur ! Signet non défini.**

CHAPITRE III : Discussion et conclusion

Séroprévalence vis à vis d'une infection simultanée par *Bartonella bovis* et *Brucella spp*. et les facteurs de risque associés .....**Erreur ! Signet non défini.**

CHAPITRE IV: Perspectives

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

Introduction

Bartonella spp. et *Brucella spp*. sont des agents pathogènes étroitement liés qui évoluent à partir d'un ancêtre commun appartenant à l'ordre Rhizobiales des α-protéobactéries (Gillespie et al. 2011). Elles possèdent des stratégies d'attaque remarquablement analogues, provoquant des infections chroniques chez les mammifères, y compris l'homme (Maguina et al., 2009). Ces dernières se manifestent par un large éventail de symptômes cliniques, allant d'une maladie subclinique à mortelle.

En Algérie, aucune étude portant sur une possible infection due à ces deux bactéries n'a été relevée. De ce fait, il nous a semblé intéressant de réaliser une enquête épidémiologique sur la coïnfection par ces deux pathogènes.

Ainsi, l'objectif principal a été d'évaluer la possible coïnfection par *Bartonella bovis* et *Brucella spp.* chez des bovins, dans la région d'Alger, et d'étudier la nature des facteurs de risque qui peuvent influencer cette coïnfection.

La partie bibliographique présente quelques rappels historiques, les connaissances actuelles sur la bactériologie de ces deux genres bactériens. Elle décrit ensuite les aspects épidémiologiques des infections par *Bartonella* et *Brucella* chez les bovins, la physiopathogénie, la pathologie de la bartonellose et de la brucellose, le diagnostic ainsi que le traitement et les moyens de lutte contre ces deux bactéries.

Dans la partie expérimentale, nous aborderons les étapes réalisées pour mener cette enquête. Le protocole expérimental est détaillé et les résultats sont exposés puis discutés. Enfin, nous terminerons ce manuscrit par une conclusion et des perspectives.

Partie 01 : Etude bibliographique

CHAPITRE I :

Bartonella spp.

I. HISTORIQUE

Les Bartonelles sont de petite bactéries hémotropes infectant de nombreuses espèces de mammifères domestiques et sauvages ainsi que l'homme.

Les premières manifestations cliniques connues à ce genre de bactéries ont été décrites chez l'homme en région du Pérou en 1870, elles se caractérisaient par une anémie hémolytique aigue appelée *fièvre d'Oroya*. Aussi dans cette même région, une autre maladie responsable de tumeurs verruqueuses de la peau et des muqueuses connue sous le nom de *verruga peruana* a été observée. Le lien entre ces deux pathologies a été établi en 1885 par Carrion qui a laissé son nom à l'infection « Maladie de Carrion ». Il s'est inoculé du sang prélevé d'un patient atteint de la *verruga peruana* et avait présenté les symptômes d'une *fièvre d'Oroya* qui lui a été fatale.

Ce n'est qu'en 1909 que l'agent responsable de cette pathologie fut décrit par Alberto Barton, qui lui a attribué le nom de *Bartonella bacilliformis* (Hansman et al., 2010).

En 1915, la « *fièvre des tranchées* » aussi appelée « *fièvre quintane* » ou « *fièvre des cinq jours* » due à *Bartonella quintana (*anciennement appelée *Rochalimea quintana)* a été observé pour la première fois. (Maguina et al. 2000).Cette maladie se caractérise par des accès fébriles survenant à des intervalles réguliers tous les 5jours. (Houpikian, 1993).

En 1950 la maladie des griffes du chat est décrite par Debré et Mollaret chez des enfants présentant des adénopathies suite à des griffures de chat. En revanche, l'indentification de l'agent responsable n'a été établie qu'en 1992. (Brenner et al,1993).

Depuis 1993, d'autres espèces de *Bartonella* ont été mises en évidence notamment chez les animaux:

- En 1995, *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* est isolée du sang de chiens atteints d'endocardite.
- En 1995, Clarridge isole chez des patients VIH positifs des souches de bartonelles différentes de *Bartonella henselae* (présence de flagelles en particulier). C'est en 1996 qu'est décrite l'espèce *Bartonella clarridgeiae* par Lawson et Collins, espèce associée à la maladie des griffes du chat.

- En 1998, *Bartonella tribocorum* est isolée de sang de rats sauvages (Rattus norvegicus) et *Bartonella washoensis* d'un patient atteint d'une maladie cardiaque (Breitschwerdt et al. 2000).
- En 1998 et 1999, *Bartonella vinsonii subsp. arupensis* est isolée.
- De janvier à novembre 1999, *Bartonella koehlerae* est isolée de sang de chats domestiques, *Bartonella alsatica* de sang de lapins sauvages capturés en Alsace et *Bartonella weissii* est isolée chez un chat.
- En 2000, *Bartonella birtlesii* est isolée du sang de petits rongeurs du genre *Apodemus* en France et en Grande-Bretagne.
- En 2001, *Bartonella capreolus* est isolée de chevreuils.

Chez les bovins, la première description d'une infection des érythrocytes à *Bartonella* sous le nom d'*Haemobartonella bovis* a été décrite par Donatien et Lestoquardi, en 1934 en Algérie. D'autres auteurs ont aussi décrit la présence de Bartonelles chez cette même espèce: Adler et Ellenbogen en Palestine en 1934, Rodriguez en 1935 à Grenade. En 1947, Van Saceghem chez deux bovins ruandais. En 1952, Pollard et Parmer décrivent des bartonelles bovines chez des bovins américains présentant de l'amaigrissement, de la faiblesse et des muqueuses pâles. En 2001, Bermond et ses collaborateurs ont isolé *Bartonella bovis*, il s'agit de *Bartonella weissii*. Peu de de temps après, *Bartonella chomelii* a été isolée du sang de bovins en France (Maillard et al. 2004).

Aujourd'hui, on note 27 espèces et sous espèces de *Bartonella* dont plusieurs connues comme étant agent de zoonose (Maillard et al., 2008).

II. TAXONOMIE

Les bartonelles font partie des *α-Protéobactéries* et sont biologiquement et génétiquement proches des genres *Rickettsia* et *Brucella.*

L'ancienne taxonomie bactérienne reposait sur des caractères phénotypiques incluant la morphologie, la physiologie, le pouvoir pathogène expérimental et clinique et des données épidémiologiques. Anciennement, la famille des *Bartonellaceae* appartenait à l'ordre des *Rickettsiales* car ces bactéries satisfaisaient à certains critères définissant cet ordre : petit bacille, Gram négatif, polymorphes, intracellulaires et associés à des arthropodes (Phillip et al., 1936).

Ce n'est qu'après le développement des techniques de biologie moléculaire que Brenner et al. ont pu, en se basant sur la comparaison des séquences de l'ARN 16S et l'hybridation ADN-ADN, unifier les genres *Bartonella*, représenté par *B. bacilliformis*, et *Rochalimaea* constitué par : *R. henselae*, *R. quintana*, *R.vinsonii* et *R. elizabethae* (Brenner et al., 1993).

En 1995, les espèces appartenant au genre *Grahamella* (*G. talpae*, *G. grahamii*, *G.taylori*, *G. peromysci* et *G. doshiae*) ont été affiliées au genre *Bartonella* au vu de la similarité (98.5%) de leur séquence 16S rRNA avec celle de *Bartonella bacilliformis* (Birtles et al., 1995).

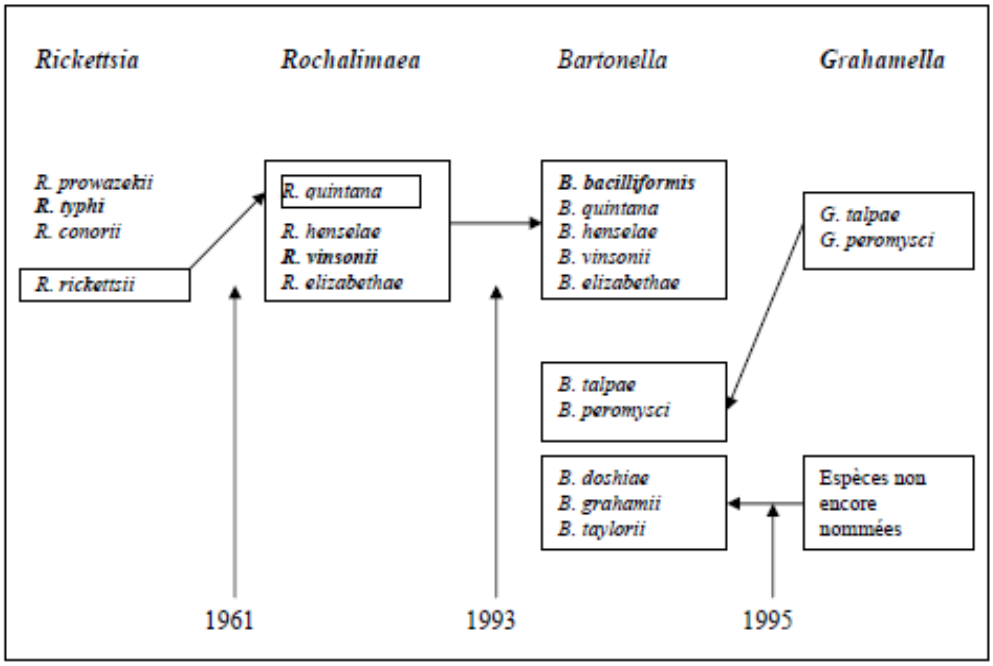


Figure 01 : Evolution de la classification des bartonelles (Piémont et Bermond, 2001).

III. BACTERIOLOGIE

III.1. Caractères morphologiques

Les *Bartonella* sont des bactéries gram négatif, polymorphes : elles peuvent être retrouvées sous forme de coques, de bâtonnets ou en anneau et sont souvent filamenteuses. Elles sont de petite taille, ne dépassant pas les 03µm de longueur (Brenner et al., 1993).

Certaines espèces de ces bactéries présentent des caractères morphologiques spécifiques : *B.bovis* est dépourvue de flagelle et mesure 02µm (Akardjoudj 2003). *B. clarridgeiae, B. bacilliformis, B. alsatica et B. capreoli* présentent la particularité d'être flagellées (Flagelles unipolaires) (Bermond 2002, Boulouis 1999, Euzeby 1997). Alors que *B.henselae, B. quintana* et *B. tribocorum* possèdent des pilis (Akardjoudj, 2003).

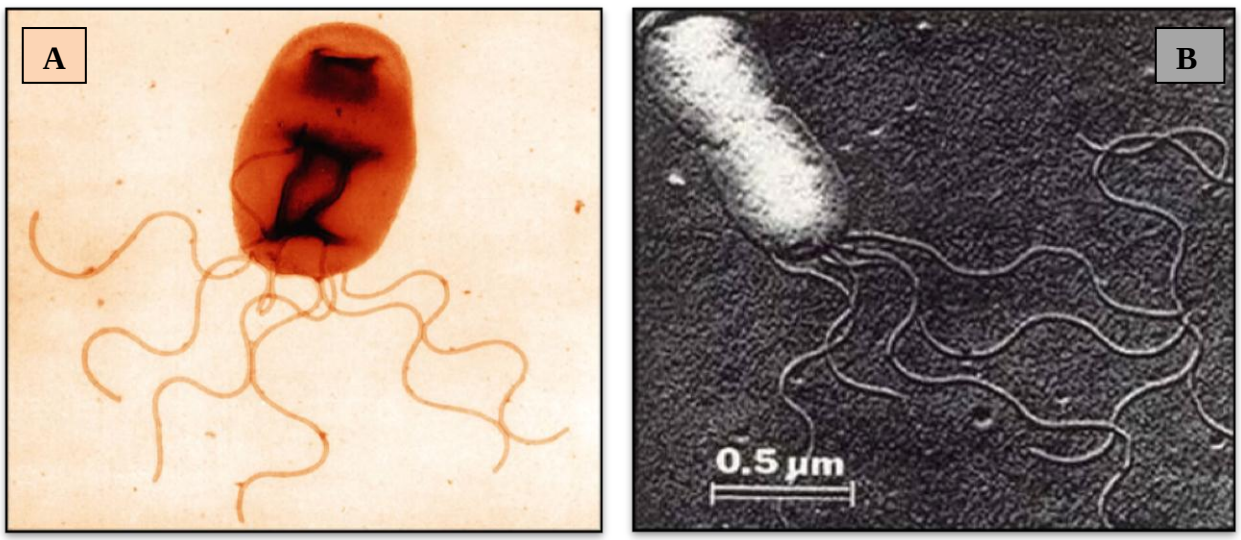


Figure 02: A -*Bartonella clarridgeiae* (Andersson SG. et Dehio C., 2000) , B- *Bartonella bacilliformis* (Ristic M., Kreier JP., 1984) Observées sous microscope électronique.

III.2. **Caractères culturaux**

Les conditions optimales de culture pour la plupart des espèces sont réalisées par l'ensemencement de milieux enrichis avec du sang (5% de sang défibriné de mouton, de lapin ou de cheval), à l'exception de *B. quintana* et *B. koehlerae* qui préfèrent la gélose chocolat en primo-culture (Heller *et al.,* 1999 ; Birtles *et al.,* 1993). Les bartonelles poussent mieux sur le sang frais de lapin ou de cheval que sur celui de mouton. Leur croissance nécessite une atmosphère humide enrichie en dioxyde de carbone (à l'exception de *B.bacilliformis* qui croît à 28-30°C sans nécessiter de CO2).

Les sources d'énergie sont : le succinate, le pyruvate, la glutamine ou le glutamate mais pas le glucose. L'incubation est longue, elle s'effectue à 34-37°C et dure de 5 jours à 4-6 semaines. Les colonies peuvent être polymorphes. Elles sont généralement petites, blanchâtres, rugueuses et adhèrent à la gélose (Bouchouicha, 2010).

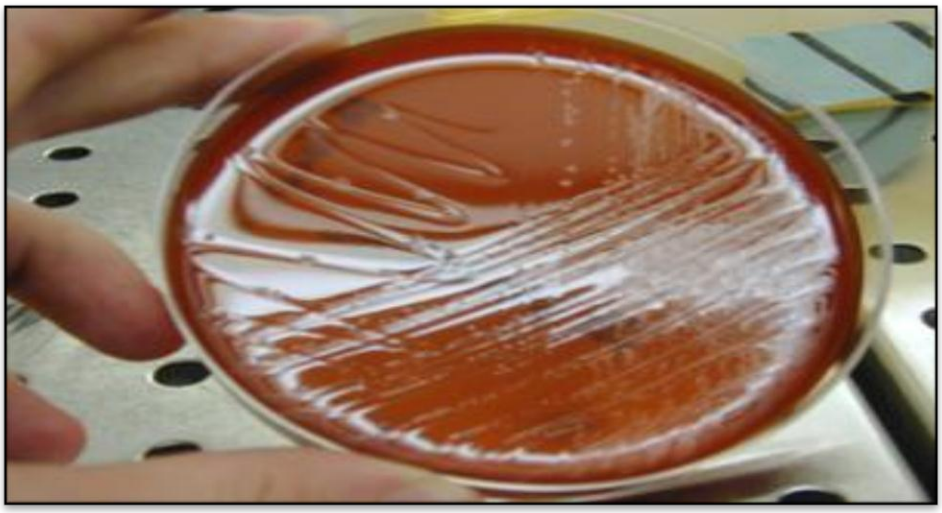


Figure 03: Culture de *B. henselae* sur gélose au sang. (La Scola and Raoult, 1999).

III.3. **Caractères biochimiques**

Les bactéries du genre *Bartonella* sont aérobies, elles sont généralement oxydase et catalase négatives (*B. henselae* est faiblement catalase positive), nitrate réductase, indole et uréase négatives (Slater *et al.,* 1990 ; Regnery *et al.,1992* ; Welch *et al.,* 1991). Elles sont incapables d'oxyder le glucose pour la fourniture de leurs besoins énergétiques mais elles utilisent le glutamate et le succinate comme source de carbone. Ces bactéries ne répondent pas aux tests biochimiques standards car ces derniers ne contiennent pas d'hémine impliquée dans la croissance des bartonelles (watcharee et al., 2009).

IV. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DE LA BARTONELLOSE

IV.1. Répartition géographique

Les bartonelles sont connues comme étant des bactéries ubiquistes, elles ont déjà été retrouvées sur les quatre continents **(figure 4)** : Amérique, Afrique, Asie et Europe (Delcroix et Barbazange, 2002). Cependant, *Bartonella Bacilliformis* responsable de la maladie de Carrion n'a été retrouvée qu'en Amérique du Sud (Pérou, Equateur et Colombie).

Par ailleurs, il a été observé que les infections à *Bartonella* ne sont pas toujours homogènes, que ce soit chez l'homme ou les animaux, dans un même continent ou un même pays (Chang et al., 2000 ; Ellis et al., 1999 ; Jameson et al., 1995). Cette variation pourrait être due à la présence et la quantité de vecteurs de la maladie présents dans la région (Delcroix et Barbazange, 2002).

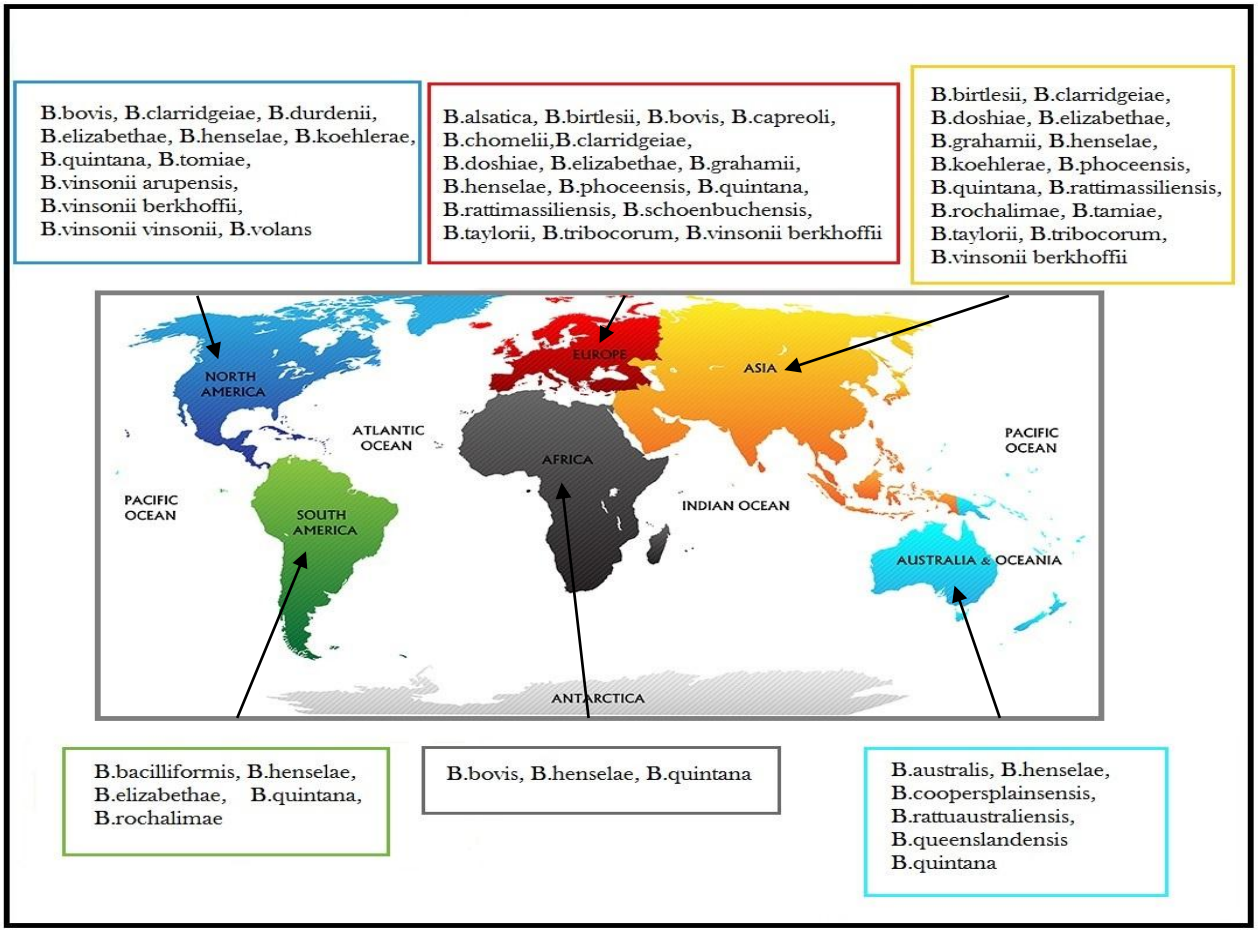


Figure 04: Distribution mondiale des espèces de *Bartonella* (Watcharee et al, 2009).

IV.2. Espèces affectées et réservoirs

Les infections à *Bartonella* comportent trois caractéristiques épidémiologiques communes liées à leur biologie de bactéries hémotropes :

- il existe des réservoirs animaux ou humains qui se définissent par la présence de bactéries dans les érythrocytes ce qui engendre une bactériémie à long terme qui peut durer plusieurs semaines à plusieurs mois et qui peut s'accompagner d'une récurrence jusqu'à un an après l'infection initiale (Boulouis et al., 2014) ;
- la bactérie est principalement transmise à l'intérieur d'une espèce réservoir par un vecteur arthropode ;
- des hôtes réservoirs ou accidentels peuvent présenter des pathologies.

Les *Bartonella* ont été isolées chez plusieurs espèces animales et chez l'homme.
L'homme est connu comme étant à la fois un réservoir de deux espèces (*Bartonella baciliformis* et *Bartonella quintana)* et un hôte sensible pour plusieurs autres.

6 espèces ont été isolées à la fois chez l'homme et chez l'animal et sont donc des agents zoonosiques potentiels. Il s'agit de : *B. hanselae* (Dolan M.J et al., 1993 ;Koehler J.E et al., 1997), *B.claridgeae* (Maillard et al ., 2007), *B. elizabetha* (Daly J.S et al., 1993 ; Mexas A.M et al., 2002), *B . grahamii* (Kerkhoff F.T et al., 1999) , *B.vinsonii subsp arupensis* (Welch D.F et al., 1999) et *B. vinsonii subsp burkhoffii* (Roux V. et al., 2000 ; Kordick D.L. et al., 1996).

Les animaux comme les chats, les chiens, les bovins, les mammifères sauvages (cervidés, coyotes, rongeurs, lapins, taupes) sont la cible des autres espèces de *Bartonella*. (Locatelli, 2003).

Chez les bovins, seules trois espèces de *Bartonella* ont été isolées il s'agit de *Bartonella bovis*, *Bartonella chomelii* et *Bartonella schoenbuchensis* (Chang et al., 2000 ; Breitshwerdt E.B et al., 1995).

Tableau 01 : Espèces et sous-espèces de Bartonella, hôtes principaux et vecteurs. (Maillard et al ., 2007)

Espèce	Réservoir principal	Vecteur Principal
B. alsatica	Lapin (Oryctolagus cuniculus)	Inconnu
B. australis	Kangourou (Macropus giganteus)	Inconnu
B. bacilliformis ***	Homme	Phlébotome (Lutzomia sp)
B. bovis *,**	Bovin (Bos taurus),ruminants	Hippobosciadae ?
B. birtlesii	Apodermus sp	Puce (Ctenocephtalmus nobilis)
B. capreoli	Chevreuil (Capreolus capreolus)	Hippoboscidae (Lipoptena)
B. chomelii	Ruminants	Inconnu
B. clarridgeiae **	Chat (Felis catus)	Ctenocephalides felis
B. doschiae	Microtus agrestris	
B. elizabethae	Rat (Rattus norvegicus)	Xenopsylla cheopis
B ; grahamii *,**	Micromammifères sauvages (Clethrionomys glareolus, Microtus agrestris, Apodemus flavicollis)	Puces
B. henselae *,**	Chat (Felis catus)	Ctenocephalides felis
B. koehlerae **	Chat (Felis catus)	Ctenocephalides felis
B. melophagi	Mouton (Ovis aries)	Melophagus ovinus
B. phoceensis	Rat (Ratus norvegicus	Puces
B. quintana ***	Homme	Pediculus humanus corporis
B. rattimassiliensis	Rat (Rattus norvegicus)	Puces ?
B. rochalimae **	Renards roux et gris	Inconnu
B. schoenbuchensis	Chevreuil (Capreolus capreolus)	Hippoboscidae (Lipoptena)
B. talpae	Taupe (Talpa)	
B. tamiae **	Inconnu	Inconnu
B. taylori	Micromammifères sauvages	Puces ?
B. tribocorum	Rat (Rattus norvegicus	Puces ?
B. vinsonii		
subsp. Vinsonii	Micromammifères sauvages	Puces ?
subsp. berkhoffii *, **	Coyote (Canis latrans)	Inconnu (Ixodes ?)
Subsp. arupensis **	Peromyscus leucopus	Inconnu (Puces ?, tiques ?)
B. waschoensis *,**	Écureuil fouisseur de Californie (Spermophilus beecheyii)	Inconnu (Puces ?)

- *: pathogène animal
- ** : agent de zoonose
- *** : pathogène humain

IV.3. Mode de transmission

IV.3.1 Transmission vectorisée

C'est le mode le plus fréquemment connu aux *Bartonella*, ce type de transmission se fait essentiellement *via* des arthropodes hématophages qui semblent pouvoir assurer l'inoculation de la bactérie à son hôte mais aussi jouent un rôle dans sa propagation d'un hôte à un autre.

Dans le cadre de la recherche de la transmission vectorielle de *Bartonella spp*., les études ont montré qu'un même vecteur hématophage pouvait héberger plusieurs espèces de *Bartonella spp.* sans pour autant les transmettre à un même hôte ce qui suggérerait la présence d'un mécanisme d'adaptation des *Bartonella* à leur écosystème hôte-vecteur (Tsai et al., 2010-2011).

La préférence d'un vecteur pour un animal donné est en partie responsable de l'association plus fréquente d'une espèce de *Bartonella* donnée avec une espèce animale donnée.

Les vecteurs connus aux Bartonelles sont :

- ***Lutzomia verrucarum*** *:* qui est un phlébotome vecteur de *Bartonella bacilliformis* responsable de la maladie de Carrion chez l'homme.

- **Les mouches** : la bactérie a été isolée a partir de : *Hippoboscidae* en France (Jamel et al. 2004) *Haematobia* en Californie (Tsai et al 2011), *Hippobosca equina* prélevée sur des cerfs sauvages en Nouvelle Calédonie (Cabre et al. 2016). Les principaux représentants de la famille des *Hippoboscidae* sont associés de façon privilégiée à une espèce de ruminants donnée **(tableau 1)** et joue sans doute un rôle important dans la transmission : 70 à 100 % des *Hippoboscidae* suspectés d'intervenir chez les ruminants sont porteurs d'ADN de *Bartonella*. (Halos *et al.* 2004).

- **Les poux** : *Pediculus humanus corporis* vecteur de *Bartonella quintana* responsable de la maladie des tranchées chez l'homme.
  Une étude en Palestine a aussi montré que 11 parmi 13 poux *Haematopinus quadripertusus* recoltés chez des bovins laitiers étaient porteurs de *bartonella.spp*, et que l'ADN de ces

bartonelles est très proche de celles des ruminants : *B.bovis, B.chomelii, B.scoenbuhensis* (Gutiérrez et al., 2014).

- **Les puces** : la puce du chat *Ctenocephalides felis* est indispensable pour maintenir l'infection chez les chats (Chomel et al., 1996). *B.henselae* peut se multiplier dans le système digestif de ces parasites et survivre quelques jours dans leurs déjections (Higgins et al., 1996). Les chats inoculés avec des déjections de puces deviennent bacteriémiques (Foil et al., 1998). Ces résultats conduisent à l'hypothèse d'une transmission de *Bartonella spp.* par le biais de l'inoculation de déjections pulicidienne qui se produit soit par les puces elles-mêmes soit lors d'une effraction cutanée (griffures, morsures …). Chez les chats infectés expérimentalement aucune transmission directe par griffure ou morsure n'a pu être mise en évidence (Chomel et al., 1996).

- **Les tiques** : elles sont des candidats potentiels dans la transmission de la bactérie aux ruminants: (Breitschwerdt et Kordick, 2000 ; Sauger, 2005). En effet, *Bartonella spp* a été détectée dans plusieurs espèces de tiques dures telles que *: Dermacentor, Haemaphysalis, Ixodes et Rhipicephalus.* Cependant, cette transmission n'a jamais été démontrée malgré les nombreuses études épidémiologiques et cliniques réalisées.

IV.3.2. Transmission non vectorisée

IV.3.2.1. Transmission transplacentaire

Cette voie de transmission semble possible mais en raison des différents types de placentations selon les espèces considérées (diffuse chez les équidés, cotylédonaire chez les ruminants, zonaire chez les carnivores, discoïdale chez les rongeurs et l'homme) elle semble limitée (Breitschwerdt et Kordick 2000). En effet, elle n'a été démontrée qu'expérimentalement chez les rongeurs (Kosoy et al., 1998 ; Barrat et al., 1999).

IV.3.2.2. Transmission par voie intradermique ou sous-cutanée

Ce mode de transmission fait intervenir des griffures ou un grattage avec des griffes ou des ongles contaminés par des déjections d'arthropodes infectés.

IV.3.2.4. Transmission par voie digestive

A été documentée expérimentalement chez les chats par Guptill et al. (Guptill L et al., 1999) et chez les rongeurs (Karem et al.,1999).

V. PATHOGENIE DES INFECTIONS A *BARTONELLA*

Les bartonelles ont pour point commun leur hémotropisme chez les mammifères réservoirs, celui-ci est déterminé par leur besoin en fer (Minnick et Anderson, 2000).Elles peuvent parasiter les érythrocytes et sont dotées d'un pouvoir d'invasion des cellules endothéliales. (Dehio, 2004 ; Maillard et al., 2005).

De plus, les bartonelles semblent être capables de coloniser d'autres types cellulaires : les monocytes, les marophages, les cellules dentdritiques (Musso et al., 2001 ; Resto-Ruiz et al., 2002 ; Schult et al., 2006 ; Vermi et al., 2006), certaines cellules épithéliales pour *B.bacilliformis*, des cellules cardiaques pour *B. quintana* (Trottet., 2003).

V.1. Parasitisme des érythrocytes

En parasitant les globules rouges, la bactérie se procure certains avantages : elle est à l'abri de la réponse immunitaire à médiation humorale et des lysosomes, de plus, la durée de vie des GR est longue et l'infestation est directe et rapide lorsque l'infection se fait par le biais d'un arthropode hématophage (Dehio, 1997).

V.1.1. Adhésion

La première étape du parasitisme érythrocytaire est l'adhésion aux GR. Ce processus est énergie dépendant (Dehio, 2001). Les adhésines entrant en jeu dans ce processus restent mal connues et il semblerait que la force propulsive que procure le flagelle est un élément favorisant cette invasion. (Minnick et Anderson., 2000).

Mais, étant donné que la plus grande partie des bartonelles ne possèdent pas de flagelles il est fort probable que d'autres facteurs tels que les protéines membranaires soient également impliquées.

V.1.2. Invasion

Les érythrocytes sont des cellules anucléées. Elles possèdent un cytosquelette passif interdisant à la cellule une activité phagocytaire et donc l'invasion intracellulaire par les bartonelles qui présente la seconde phase du parasitisme est un phénomène purement actif impliquant des protéines extracellulaires comme la déformine qui induit de grosses invaginations dans la membrane érythrocytaire par lesquelles s'engouffrent les bactéries (Dehio C., 1997-2001 ; Minnick M.F. et Anderson B.E., 2000).

L'étude de Schülein et ses collaborateurs a permis de mettre en évidence la chronologie de l'invasion des érythrocytes **(figure 05)** (Schouls et al., 1999) : Après une inoculation intraveineuse, les bactéries colonisent une niche initiale de cellules dont l'identité reste indéterminée. Le fort tropisme des bartonelles pour les cellules endothéliales laisse penser qu'elles pourraient constituer cette niche primaire (Boulaghias , 2016).

La colonisation débute quelques heures après l'inoculation et dure 3 à 4 jours. La phase de bactériémie a lieu 4 à 5 jours post-inoculation par l'invasion des érythrocytes matures. L'invasion des globules rouges, grâce à la déformine, débute par un stade épi-cellulaire et elle est totalement achevée en deux jours. Cette phase est aussitôt suivie d'une réplication intracellulaire des bactéries contenues dans une vacuole. La réplication se stabilise lorsqu'il y a 8 bartonelles en moyenne dans chaque érythrocyte. L'arrêt de la réplication résulterait d'un manque de facteur de croissance ou indiquerait une régulation très fine de la part des bactéries afin de limiter la population intra-érythrocytaire. Les bartonelles (exceptée *B. bacilliformis*) sont à ce jour les seules bactéries capables de coloniser durablement un érythrocyte sans le détruire et de persister jusqu'à son renouvellement physiologique. La bactérie reste ainsi plusieurs semaines à l'abri de la réponse immunitaire et augmente sensiblement sa chance d'être aspirée par un arthropode piqueur.

Lorsque les érythrocytes meurent, les bartonelles sont libérées dans le torrent sanguin et colonisent d'autres érythrocytes. Ainsi, on observe des vagues de ré-infestation tous les 3 à 6 jours, ce qui correspond aux symptômes de la fièvre des tranchées, par exemple, mais qui restent le plus souvent asymptomatique. Il apparaît que l'intensité des symptômes, de asymptomatique à fièvre sévère, est dépendante du degré d'adaptation de la *bartonella* et de son hôte (Boulaghias, 2016).

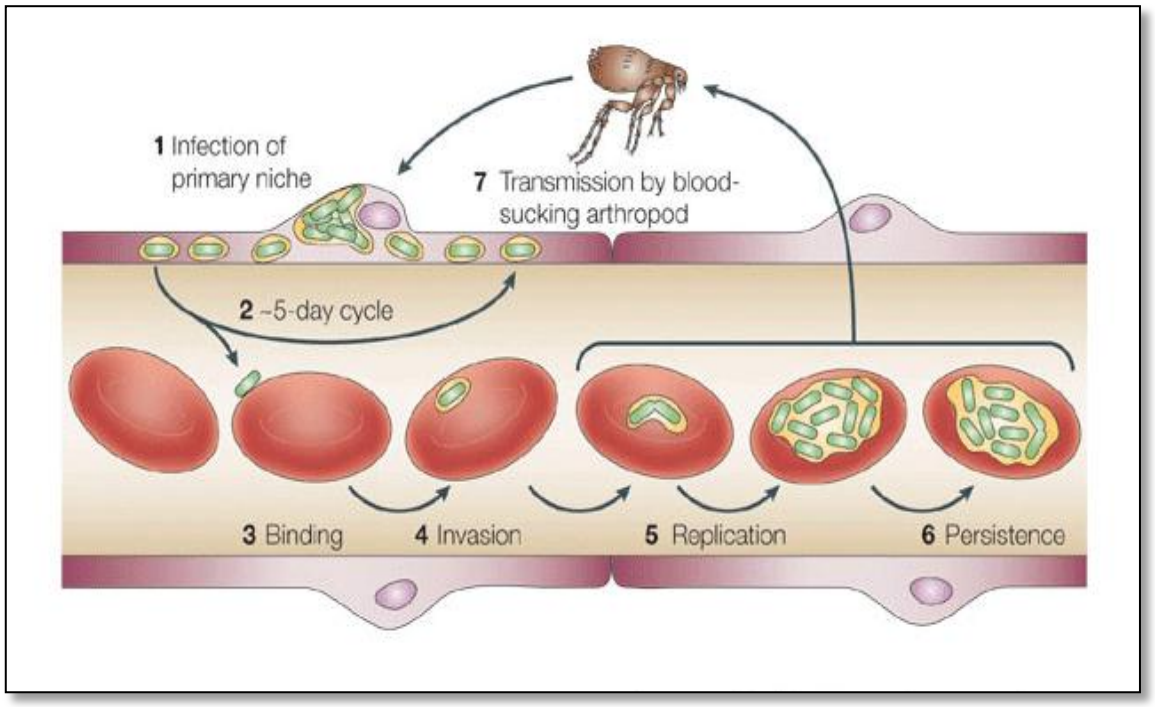


Figure 05: Modèle du parasitisme des érythrocytes par *Bartonella* (Schülein *et al*. 2001).

V.2. Colonisation des cellules endothéliales et des autres cellules nucléées

L'interaction des bartonelles avec les cellules nucléés de l'hôte nécessite des pré-requis différents de ceux pour l'interaction avec les érythrocytes. Ceci est en grande partie lié à la différence de structure du cytosquelette de ces deux types de cellules (Boularias G., 2016).

V.2.1. Adhésion

La première étape de l'infection des cellules nucléées est celle de l'adhésion à la matrice extra-cellulaire et à la membrane plasmique de la cellule. Cette étape est médiée par des protéines de surface qui vont permettre l'attachement de la paroi bactérienne à celle de la cellule hôte. Selon l'étude de Batterman, l'adhésion des bartonelles aux cellules endothéliales de veines ombilicales humaines se fait par l'intermédiaire de pilis (Batterman et al., 1995). Ces protéines de surface ont été identifiées comme étant des adhésines appartenant à la classe des autotransporteurs trimétriques TAAs (Riess et al., 2014), les principales sont : les protéines BadA (Bartonella adhésine A) et les Vomps (Variably expresse outer membrane proteins) qui s'expriment lors d'infection par *B.henselae* et *B.quintana* respectivement (Zhang et al., 2004 ; Muller et al., 2011).

V.2.2. Invasion

La seconde étape de la colonisation est l'invasion. Cette étape a été étudiée in vitro sur les HUVEC (Humans Umbelical Vein Endothelial Cells). L'étude a montré que l'invasion des cellules en culture par *B.bacilliformis* (Hill, 1992) et *B.henselae* est actine dépendante et aboutit à l'internalisation de petits groupes bactériens amassés à la surface de la cellule hôte dans des vacuoles appelés phagosomes. Ce phénomène est celui d'une phagocytose induite par la bactérie. Cette phagocytose dépend de l'activation de la RhoGTPase qui joue un rôle dans l'activation des molécules d'actine (Dehio, 2001).

V.2.3. Angiogénèse

Le caractère le plus inhabituel des bartonelles est leur capacité à induire des manifestations locales au sein des tissus vasculaires de plusieurs organes (peau, foie, cerveau, os, œil, nœuds lymphatiques) (Dehio, 2001) ; ces manifestations sont appelées néo-angiogénèses pathologiques. Ces lésions de vasoprolifération sont constituées de cellules endothéliales, de bactéries et d'infiltrats mixtes de macrophages, de monocytes et de polynucléaires neutrophiles. Elles sont observées dans la forme chronique de la maladie de Carrion, dans l'angiomatose bacillaire et la péliose hépatique ou splénique provoquée par *B.bacilliformis*, *B.henselae* et *B.quintana* chez les hôtes immunodéprimés (Bhutto et al., 1994). Ce phénomène d'angiogénèse fait intervenir la protéine BadA qui est exprimée durant les infections à *B.henselae* où elle intervient dans la vasoprolifération en activant le facteur HIF-1 (Hipoxia inducible facteur-1) induisant la sécrétion de VEGF (Vascular endothelial growth factor) (Boularias G., 2016).

V.3. Colonisation d'autres cellules

Des études *in vitro* ont montré que d'autres types cellulaires sont susceptibles d'être envahis par les bartonelles : *Bartonella quintana* envahit des cellules épithéliales Hep2, des cellules endothéliales humaines et des cellules cardiaques, *Bartonella bacilliformis* peut coloniser des cellules épithéliales et endothéliales (Minnick et Anderson, 2000).

V.4. Facteurs du pouvoir pathogène

- **Flagelle :** le flagelle n'apparaît pas essentiel dans l'adhérence aux érythrocytes car il y a en réalité collision entre la bactérie et les globules rouges par l'intermédiaire de la motilité due au flagelle. (Dehio, 2004 ; Trottet, 2003)

- **Pili :** ils joueraient un rôle important dans l'adhésion car ils semblent avoir des propriétés typiques : induire une motilité par saccades et promouvoir l'auto-agrégation. On pense qu'ils ont une influence sur la phagocytose bactérienne et sur le rôle de l'invasome (Dehio, 2004).

- **Autotransporteurs trimétriques adhésines (BadA,Vomps) :** ont pour rôle l'attachement à la matrice extracellulaire , l'activation de HIF-1 et l'inhibition de la phagocytose des macrophages.

- **Déformine :** *B. bacilliformis* interagit avec les érythrocytes humains par la formation de profonds trous et tranchées dans la membrane érythrocytaire qui sont de véritables portes d'entrée pour l'invasion bactérienne. C'est la déformine qui déclenche ce phénomène. Cette dernière est en fait une molécule hydrophobe de 1,4 kDa ayant une forte affinité pour l'albumine (Dehio, 2004).

- **Facteur angiogène :** a pour rôle, l'inhibition de l'apoptose et la stimulation de l'activité mitogène des cellules hôte (Dehio, 2004).

- **LPS :** sont des antagonistes des TLR4 (Toll-like receptor 4) (Boularias G, 2016).

- **Autres :** de nombreuses protéines de la membrane externe (Omps), le système de sécrétion de type IV VirB /D4 , protéines effectrices de bartonelles (Bep), facteurs de sécrétion (GroEL) , la flagelline … interviennent aussi dans la pathogénie des infections dues à *Bartonella spp*.(Boularias G., 2016)

VI. ETUDE CLINIQUE DE LA BARTONELLOSE

VI.1. Etude clinique chez les bovins

Les bovins sont infectés par *B. bovis, B. chomelii, B. schoenbuchensis.*
Bartonella bovis a longtemps été suspecté de provoquer des problèmes de reproduction (avortement, mortalités embryonnaires) (Maillard et al., 2006-2007) .
L'étude réalisée par S.Chastant Maillard en 2014, qui a porté sur l'éventuelle présence d'une transmission verticale de *B.bovis* sur 56 vaches gestantes, a démonté qu'il n'y avait pas de transmission transplacentaire de cette bactérie.

Chez cette même espèce, deux cas d'endocardite bovine à *Bartonella bovis* ont été décrits dans une série portant sur 22 cas (Maillard *et al.* 2007). Il s'agissait d'endocardites atteignant les valves aortique et mitrale d'animaux âgés respectivement de 13 et 15 ans. L'une d'entre elles était une découverte d'autopsie après une mort subite, l'autre avait été diagnostiquée à partir de symptômes classiques d'endocardite (amaigrissement et baisse de l'état général, auscultation cardiaque anormale).
B.bovis a également été isolée à partir de la valve aortique d'une vache atteinte d'une endocardite valvulaire (Erol et al., 2013).

VI.2. Etude clinique chez les autres espèces

Le chat a longtemps été connu comme étant porteur asymptomatique des infections à *Bartonella (B.henselae et B.Clarridgieae)* avec une expression de bactériémie à long cours. Cependant, une séropositivité à *B.henselae* a aussi été associé à des infections rénales et urinaires, des stomatites, des lymphadénopathies ou des uvéites. (Glaus et al., 1997).

D'autre part, un cas d'endocardite après une infection naturelle à *B.henselae* a été rapporté, mettant en question la notion de réservoir asymptomatique (Chomel et al., 2003).

En plus il a pu être décrit expérimentalement différents signes cliniques, on cite : épisode fébrile associé à une adénopathie et/ou un dysfonctionnement neurologique (léthargie, anorexie, douleur musculaire) (O'Reilly et al., 1999). La présence de trouble de reproduction : portée de petite taille

ou infertilité (Guptill et al., 1998) dus à ces pathogènes même, si de façon générale, tous les travaux expérimentaux vont dans le sens de l'infection asymptomatique.

Le chien quant à lui, est considéré comme étant un hôte accidentel, il présente la plupart des principales manifestations décrites chez l'homme et constitue sans doute le meilleur modèle animal de ces infections. Les endocardites ont été les premières manifestations cliniques décrites chez le chien. Les espèces de bartonelles le plus souvent incriminés sont : *B. vinsonii berkhoffii, B. clarridgeiae* ou *B. clarridgeiae-like, B. washoensis* et *B. quintana* (Chomel et al., 2003). D'autres manifestations, plus rares, ont été décrites. II s'agit d'atteintes granulomateuses de localisations variées, de péliose hépatique et d'atteinte des muqueuses responsable d'épistaxis (Boulouis et al., 2005 ; Saunders et al., 2006). Par ailleurs, il existe des corrélations positives entre la sérologie et différents tableaux cliniques : douleur articulaire, arthrite, jetage nasal, épistaxis, splénomégalie (Boulouis et al.,2005), thrombocytopénie et neutrophilie (Breitwschwerdt et al., 2006), anémie hémolytique immune, méningo-encéphalite granulomateuse ou neutrophilique, polyarthrite neutrophilique, vascularite cutanée, chordidite ou uvéite (Breitwschwerdt et al., 2004).

VI.3. Etude clinique chez l'homme

Tableau 02 : Manifestations clinique des infections à *Bartonella* chez l'homme (Bitan, 2002).

Dénomination de la maladie	Bartonelle	Manifestations cliniques
Maladie de Carrion	***Bartonella bacilliformis***	Se présente sous trois formes : -Forme aigue= primo infection : fièvre guérissant spontanément, myalgies suivit par une bactériémie chronique asymptomatique dans 15% des cas. -Forme sévère= fièvre d'Oroya : septicémie avec anémie hémolytique aigue, peut être mortelle sans traitement. -Forme chronique : succède a une primo-infection en général, se caractérise par une éruption cutanée sur l'extrémité des membres (*verruga peruana*), pseudo-tumorales, angiomateuses et saignant au contact.
Fièvre des tranchées	***Bartonella quintana***	Manifestations cliniques variées : -Bactériémie asymptomatique prolongée -Fièvre, céphalées, anémie, douleur des crêtes tibiales. Evolue par récurrence tous les 5 jours, avec des accès variables, pendant 4 à 6 semaines. -Forme chronique rare : asthénie.
Endocardite	***Bartonella quintana/ B.henselae/B.elizabethae***	Endocardite des valves cardiaques.
Angiomatose bacillaire	***Bartonella henselae/ Bartonella quintana***	Prolifération vasculaire le plus souvent cutanée Nodule/ papules remplies de sang, superficielles, dermiques ou sous-dermiques Lésions vésicales au niveau du foie, rate, TD, nœuds lymphatiques, ME, encéphale, Adénopathie régionale
Péliose hépatique	***Bartonella henselae***	Prolifération vasculaire avec dilatation capillaire conduit à la constitution de lacs vasculaires.
Maladie des griffes du chat MGG	***Bartonella henselae***	Adénopathie des nœuds lymphatiques drainant la lésion

VII. DIAGNOSTIC

Le diagnostic de l'infection peut faire appel à diverses méthodes pour l'identification de *Bartonella spp.* mais certaines sont longues à mettre en œuvre et d'autres nécessitent une haute technicité et un équipement coûteux.

VII.1. Culture bactérienne

La culture bactérienne est possible à partir de biopsie de peau ou ponction de nœud lymphatique ou de pus et à partir du sang pour *B. bovis* (Maillard et coll., 2005).
La mise en culture est réalisée sur gélose au sang de lapin frais et défibriné. La gélose doit être dépourvue d'inhibiteurs car, *in vitro*, les bartonelles sont sensibles à tous les antibiotiques.
Une congélation préalable du sang permet la «sortie» des bactéries en-dehors des hématies.
La croissance des bartonelles se fait dans une étuve maintenue à 35°C dans une atmosphère humide à 5% de CO2 sauf pour *B. bacilliformis* qui croît à 28°C sans CO2. Les colonies peuvent apparaître au bout d'une semaine mais le résultat définitif nécessite 1 mois de culture ce qui rend cette méthode incompatible avec l'urgence thérapeutique (Maillard et coll., 2005).

L'observation de la gélose ne permet pas d'identifier les bartonelles ni d'en distinguer les différentes espèces.

VII.2. Sérologique

La sérologie semble être le moyen le plus pratique pour mettre en évidence une infection à *Bartonella spp.*

VII.2.1. ELISA OU ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY

Il s'agit d'une technique immuno-enzymatique. Elle consiste en l'accrochage d'un antigène soluble sur un support (plastique ou papier). Le sérum à tester est ensuite mis en contact. On ajoute un ligand qui est une antiglobuline couplée à une enzyme telle que la péroxydase. Elle se fixe sur l'anticorps à doser. On ajoute également un chromogène qui est un substrat incolore activé par la portion enzymatique du ligand pour donner un produit coloré. Ainsi la

réaction antigène-anticorps est révélée par une antiglobuline associée à une enzyme qui dégrade le substrat (chromogène) en donnant une réaction colorée.

VII.2.2. IFI : L'immunofluorescence est probablement la méthode la plus simple pour différencier les *Bartonella*.

Cette technique a pour but de mettre en contact sur une lame le sérum à tester avec un ou des antigènes particuliers pour déterminer si ce sérum contient des anticorps dirigés contre ces antigènes. Une fois l'anticorps et l'antigène mis en contact, il se produit une réaction antigène-anticorps (formation d'un complexe immun) qui est révélée par la présence d'une anti-immunoglobuline (anti-Ig) spécifique d'espèce et marquée à la fluorescéine. Cette anti-Ig est révélée sous microscope UV, les structures ayant fixé l'anti-Ig donnant une fluorescence verte.

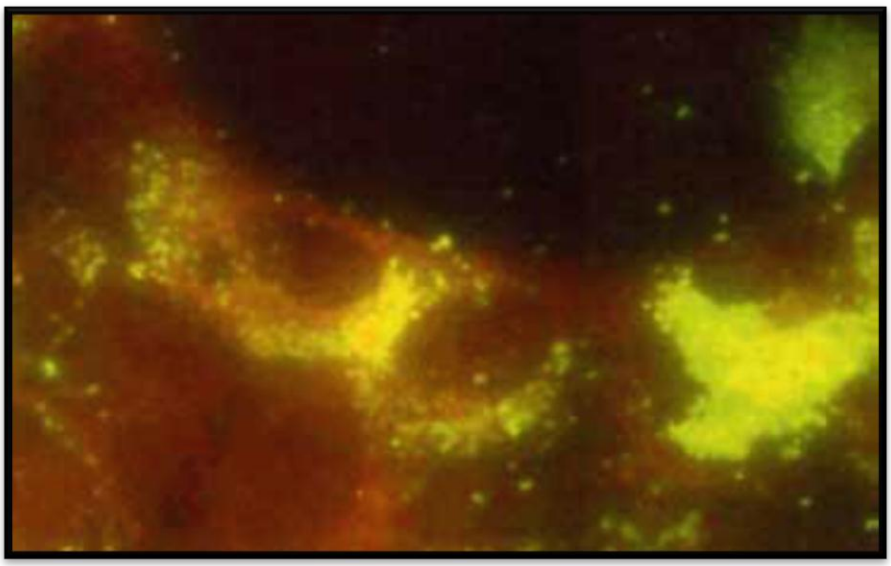


Figure 06: Immunofluorescence indirecte pour le diagnostic de l'infection à *Bartonella spp.* (Boulouis et al., 2005)

VII.3. Biologie moléculaire ou amplification PCR

Cette technique fut inventée en 1985. La réaction en chaîne de la polymérase permet d'amplifier rapidement n'importe quel morceau d'ADN *in vitro*.

Le matériel de départ est constitué d'une solution d'ADN bicaténaire contenant la séquence désirée. On y ajoute :

- de l'ADN polymérase permettant de catalyser la réaction d'amplification.
- les quatre nucléosides en quantité suffisante pour permettre la synthèse des nouvelles molécules d'ADN.
- de courts fragments d'acide nucléique, constituant les amorces et indispensables à l'activité de l'enzyme.

Ces amorces sont synthétisées par voie chimique à partir de séquences complémentaires aux extrémités du segment d'ADN d'intérêt.

Le premier gène utilisé pour le diagnostic de *Bartonella spp.* a été celui de l'ARNr 16S et 23S, ce qui a induit le rapprochement des genres *Bartonella, Grahamella* et *Rochalimaea*.
Depuis peu, l'identification des différentes espèces de cette bactérie est possible par amplification de la région intergénique d'ARNr 16S-23S, ou par amplification de certains gènes codant pour des protéines telles que gltA, groEL, ribC, rpoB, ftsZ et l'antigène. Cette technique est peu employée en médecine vétérinaire (Boulouis et al., 2005).

VIII. TRAITEMENT

Le traitement contre la bartonellose est essentiellement une antibiothérapie. En effet les bactéries du genre *Bartonella* présentent une haute sensibilité à un grand nombre d'antibiotiques, particulièrement ceux avec une bonne pénétration intracellulaire.

VIII.1. Chez les animaux

Pour les ruminants aucun traitement n'a été mis en œuvre contre les infections à *Bartonella*.
Cette thérapeutique est surtout utilisée chez le chat qui représente un réservoir d'agent de zoonose, son objectif est de limiter le risque de transmission à l'homme (Maillard et al., 2007). Elle consiste en l'administration en premier temps de la doxycycline ou de l'amoxicilline-acide clavulanique pendant 7 jours. En cas d'échec, un traitement par l'azithromycine en seconde intention est préconisé. Le traitement doit être poursuivi pendant deux semaines (Brunt J. et al., 2006).

VIII.2. Chez l'homme

L'antibiothérapie n'est nécessaire que lors de forme grave ou atypique. Les molécules utilisées sont : l'érythromycine, la rifampicine, l'azithromycine, la clarithromycine ou la doxycycline. Elles doivent être administrées pendant plusieurs semaines. (Beugnet et al., 2006 ; Maillard et al., 2005).

IX. PROPHYLAXIE DES INFECTIONS A *BARTONELLA*

La prévention de l'infection à *Bartonella* au sein des hôtes réservoirs repose sur la lutte contre les vecteurs arthropodes hématophages grâce à l'emploi de pulicides et d'acaricides. Ce traitement minimise le risque de transmission à l'homme mais aussi les risques de propagation de la maladie au sein des réservoirs (Boulouis et al., 2014).

La prévention de l'infection à *B. henselae* chez l'homme repose aussi sur une hygiène stricte pour les propriétaires d'animaux susceptibles de les véhiculer, comme par exemple se laver les mains après avoir touché les animaux pour éviter la contamination *via* les fèces de puces contenant des bactéries présentes sur le pelage de ces animaux (Boulouis et al., 2007).

La prévention repose aussi sur l'éviction des chats dans l'entourage des personnes immunodéprimées (Gurfield et al., 2001).
L'éradication des *Bartonella* chez les réservoirs, en particulier le réservoir félin par la mise au point d'un vaccin (du fait de la relative inefficacité de l'antibiothérapie curative chez le chat) constitue la voie du futur. Cependant, la mise au point d'un vaccin félin se heurte à la diversité des espèces et types de *Bartonella* infectant le chat et à l'absence de protection croisée au moins entre espèces et peut-être entre types (Boulouis et al., 2005).

CHAPITRE II :

Brucella spp.

I. HISTORIQUE

En 1858 à Malte, un chirurgien Anglais nommé Marston fait la description clinique de la « fièvre méditerranéenne ». L'agent causal de cette fièvre a finalement été isolé en 1887 par un le biologiste Britannique nommé David Bruce à partir de la rate de plusieurs militaires décédés. Le germe fut initialement dénommé « *Mirococcus melitensis* » (Roux, 1989).

En 1895, Bang, un vétérinaire Danois isole l'agent responsable de l'avortement épizootique de la vache : *Bacterium abortus bovis* ou bacille de Bang.

En 1897, Wright et Smith mettent en évidence les propriétés agglutinantes des sérums des malades atteints de « fièvre ondulante » vis-à-vis de ce coccobacille (Massard et Gerbier, 1994).

L'origine de la contamination humaine reste néanmoins obscure jusqu'aux travaux de Zammit et Horrocks qui isolent en 1905 *Micrococcus melitensis* dans le lait de chèvre (Massard et Gerbier, 1994).

En 1914, le vétérinaire Jacob Traum isole l'agent responsable de « l'avortement infectieux des truies » *Bacterium abortus suis* qui sera considéré comme une variété porcine du bacille de Bang.

Ce n'est qu'en 1917, que la relation entre *Micrococcus melitensis* et *Bacillus abortus* n'a été établie par la biologiste américaine Alice Evans qui proposa la création d'un genre *Brucella* avec les espèces suivantes: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* et *Brucella suis*. (Massard et Gerbier, 1994).

D'autres espèces ont été identifiées par la suite :

- *Brucella ovis*, en 1953, par Buddle et Boyes en Nouvelle-Zélande, comme l'agent responsable de « l'épididymite contagieuse du bélier ».
- *Brucella neotomae*, en 1957, par Stoenner et Lackman chez les petits rongeurs muridés des régions désertiques de l'Utah aux Etats-Unis.
- *Brucella canis*, en 1968, par Carmichael et Bruner, responsable d'avortements contagieux dans l'espèce canine (Massard et Gerbier, 1994).
- En 1994, ont été rapportées plusieurs espèces marines (*B. cetaceae*, *B. pinnipediae*) (Bastujii et al., 2005). D'une part, chez un dauphin en captivité (lors d'un avortement) en Californie, d'autre part, chez les phoques ou marsouins. Depuis, plusieurs souches ont été isolées de cétacés et pinnipèdes marins en Amérique comme en Europe (du nord surtout).
- En 2008, *Brucella microti* est décrite chez le renard et chez le campagnol.
- En 2014, *Brucella papionis* est décrite. Elle est isolée à partir d'un babouin mort-né.
- En 2016, *Brucella vulpis* est décrite à partir d'échantillons provenant de renards autrichiens.

II. TAXONOMIE

La classification de *brucella*, selon le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology et le sous comité de la taxonomie des *brucella,* se fait comme suit (Garrity et al., 2004 ; Osterman et Moriyon, 2006) :

Classe I: Alphaproteobacteria

Ordre VI: Rhizobiaceae

Famille III: Brucellaceae

Genre I: Brucella

Espèces:		**Biovars:**
Brucella melitensis	(hughes 1893) Meyer et Shaw 1920	1, 2, 3
Brucella abortus	(Schmidt 1901) Meyer et Shaw 1920	1,2,3,4,5,6,9
Brucella suis	Huddleson 1929	1, 2, 3, 4, 5
Brucella canis	Stoenner et Lackman 1957	
Brucella neotomea	Carmichael et Bruner 1968	
Brucella ceti	Cloeckaert et al., 2001 ; Foster et al., 2007	
Brucella pinnipedialis	Cloeckaert et al., 2001 ; Foster et al., 2007	
Brucella microti	(Hubalek et al., 2007) Scholz et al., 2008	
Brucella inopinata	(De et al., 2008) Scholz et al., 2010	
BO2	Tiller et al., 2010	
Brucella papionis	Whatmore et al., 2014	

III. BACTERIOLOGIE

III.1. Caractères morphologiques

Les *Brucella* sont parmi les plus petites bactéries, elles mesurent 0,6 à 1,5 µm avec un diamètre de 0,5 à 0,7 µm. On les retrouve parfois sous forme de petits coccobacilles de 0,5 µm, ou parfois légèrement allongées en bacilles de 1 à 1,5 µm de longueur. Ce sont des bactéries Gram négatif, immobiles, non sporulées et non capsulées. Elles ne sont pas décolorées par l'acide acétique (coloration de Stamp), ce qui indique une acido-résistance liée aux lipides de la paroi (Lavigne et al., 2011 ; Maurin, 2007 ; Roux, 1984).

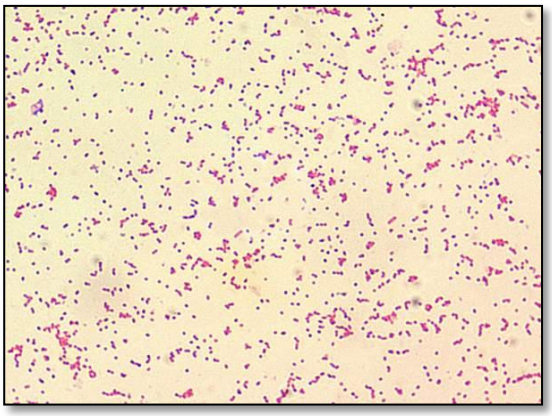


Figure 07:Vue de *Brucella spp.* Coloration de Gram (Stauffer, 2002)

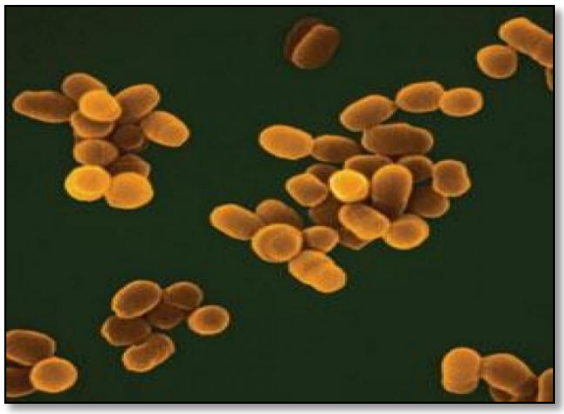


Figure 08: vue agrandie de *Brucella abortus* microscopie à balayage (Kunkel, 2008)

III.2. Caractères culturaux

La croissance des *Brucella* nécessite l'utilisation de milieux gélosés à base de peptone enrichis au sang (nécessite la présence de sérum en primoculture pour *B. abortus bv 2*). La thiamine, la niacine et la biotine sont des vitamines indispensables.

Ce sont des bactéries aérobies strictes, mais certaines souches (B. *abortus, B. ovis et B. neotomae*) se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10% de CO2.

Le pH exigé pour la croissance de *Brucella* varie entre 6,6 et 7,4. Toutefois le pH optimal se situe à 6,8.

Pour la température de culture, elle peut varier entre 20 et 37°C, avec un optimum de croissance de 34°C, bien que les *Brucella* soient habituellement cultivées à 37°C.

Elles poussent difficilement et lentement sur milieux de culture nécessitants des temps d'incubation prolongé allant de 3 jours à 3 semaines (Lavigne et al, 2007 ; Maurin, 2007).

Figure 09 : *Brucella melitensis* sur gélose chocolat (Todd, 2014)

III.3. Caractères biochimiques

Les *Brucella* sont aérobies strictes, catalase positives, oxydase habituellement positives (sauf *B. ovis et B. neotomae*), nitrate réductase positive (sauf *B. ovis).* La plupart des souches isolées en pathologie humaine produisent une uréase d'action rapide et intense. Elles ne fermentent pas les sucres. La majorité des autres caractères métaboliques sont négatifs : indole, lactose, VP, ADH, citrate de Simmons….

A cause de leur faible réactivité biochimique, l'identification de ces bactéries par les méthodes phénotypiques usuelles est difficile. L'utilisation de galeries d'identification de type API-NE peut conduire à une fausse identification (Lavigne et al., 2007 ; Maurin, 2007 ; Roux, 1984).

IV. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE

IV.1. Répartition géographique

Les *Brucella* sont connues comme étant des bactéries ubiquistes. La distribution des différentes espèces varie selon les zones géographiques.

B. abortus est la plus répandue *B. melitensis* et *B. suis* ont une répartition irrégulière (Acha et Szyfres, 2005). Elle est reconnue par l'OIE, l'OMS et la FAO comme étant la zoonose la plus répondue à travers le monde.

La brucellose bovine est aussi retrouvée dans le monde entier, même si elle a été éradiquée dans certains pays : Canada, Australie, Nouvelle-Zélande, Japon et dans certains pays d'Europe occidentale et septentrionale (Acha et Szyfres, 2005 ; Maurin, 2005). Les pays méditerranéens de l'Europe, le nord et l'est de l'Afrique, l'Afrique subsaharienne, le Moyen Orient, l'Inde, la Chine, l'Asie centrale, le Mexique, l'Amérique centrale et du sud quant à eux, ne sont pas indemnes de brucellose (Seleem et al., 2010). Les taux d'infection de la brucellose varient beaucoup d'un pays à l'autre et entre les régions du même pays (Acha et Szyfres, 2005).

La situation zoo-sanitaire internationale relative à la brucellose bovine évolue continuellement du fait des échanges mondiaux et de l'évolution des programmes de surveillance nationaux (Godfroid et al., 2003) et, malgré les avancées réalisées en matière de surveillance et le contrôle, la prévalence de la brucellose a augmenté dans plusieurs pays en développement, ce qui est dû à divers facteurs sanitaires, socioéconomiques et politiques (Gwida et al., 2010).

IV.2. Brucellose bovine en Algérie

Les premières études réalisées en Algérie sur la brucellose chez les animaux vont jusqu'à 1907, quand elle a été signalée chez les chèvres (Sergent E. et al., 1908). Quelques années plus tard après l'indépendance en 1962, la première étude sur la brucellose chez les bovins en Algérie a montré une forte prévalence individuelle (23%) par rapport à nos voisins tunisiens (1,94%) et marocains (1,4%) (Benelmouffok A., 1970). Suite à cette situation, des mesures prophylactiques et sanitaires ont été instauré en 1970, donnant comme résultats une régression générale de séroprévalence en 1976 à 12%. La prévalence individuelle chez les bovins a également régressé avec 5% en 1990 (Benelmouffok A. et al., 1992 ; Boudilmi et al., 1990).

L'isolement de *B. abortus* biovar 1 chez des bovins et *B. melitensis* biovar 3 chez des chèvres en 1990 a confirme la persistance de la circulation de la bactérie en Algérie. En 1995, un programme national pluriannuel de lutte contre la brucellose chez les ruminants (bovins, ovins et caprins) a été lancé par les services vétérinaires algériens. Il est basé sur la prévention sanitaire avec des opérations de dépistage.

Suite à cela, l'évaluation épidémiologique et statistique de l'étude des examens du programme de lutte contre la brucellose bovine a révélé une amélioration du statut sanitaire concernant la brucellose animale avec des prévalences allant de 5% au milieu des années 90, à 0,76% en 2014. Toutefois, l'identification et le taux de dépistage ne représentait que 6% de la population bovine algérienne (MADR, 2014).En effet, le nombre de bovins sélectionnés dans le cadre du programme national reste insuffisant et loin de détecter tous les animaux positifs et très loin pour contrôler cette grande zoonose. Le statut de presque 94% de la population algérienne de ruminants reste inconnu et représente une source importante de contamination pour les humains et les autres animaux. (Aggad H. et Boukraa L. , 2006).

La dernière étude en date, qui a porté sur l'identification et l'isolement des souches de *Brucella* responsables de la brucellose bovine en Algérie a été réalisée par le Dr. LOUNES en 2016. Elle a démontré l'existence de *B. abortus* dans nos élevages bovins, avec *B. abortus* bv 3comme biovar dominant. Mais aussi, *B. abortus* bv 2 et *B. melitensis* bv 2 qui ont été isolées pour la première fois dans la région maghrébine.

IV.3. Espèces affectées et réservoirs

La principale caractéristique de cette zoonose est de pouvoir atteindre à peu prés tous les animaux domestiques et sauvages. On ne reconnait presque pas d'espèce animale résistante à l'infection par cette bactérie.

Les principaux réservoirs animaux des *Brucella* sont les bovins (*B. abortus*), les ovins, les caprins (*B. melitensis*) et les porcins (*B. suis*) domestiques, même si ces notions sont majoritairement exactes, il n'est pas exceptionnel de trouver des bovins infectés par *B. melitensis*, ou des ovins contaminés par *B.abortus*.

Des souches de *Brucella* ont également été isolées dans d'autres espèces animales domestiques (équidés, camélidés, buffle d'eau, renne, yack, etc.) et sauvages (grands fauves, cervidés, bovidés, rongeurs, oiseaux etc.), mais aussi à partir de mammifères marins en particulier de cétacés (rorquals, dauphins, marsouins), de pinnipèdes (phoques, otaries, morses) et de loutres. L'atteinte des animaux sauvages ne paraît pas affecter sérieusement leur développement, mais un doute subsiste toujours quant au rôle qu'ils peuvent jouer par rapport a la transmission de la maladie aux animaux domestiques et dans le maintien de la brucellose à une échelle mondiale (Roux, 1979 ; Gomo, 2015).

IV.4. Sources de contagion

- **Animaux infectés :**
  tout animal infecté, malade ou apparemment sain, constitue une source potentielle de contamination. Il peut en outre rester porteur de germe et contagieux durant toute son existence (Ganiere J-P., 1990). Aussi, toutes ses secrétions et excrétions sont considérées comme étant des matières virulentes lors d'une infection à *Brucella* ;

- **Contenu de l'utérus gravide :**
  le contenu de l'utérus gravide représente la matière virulente essentielle, cette constatation est fondamentale car elle débouche sur la notion « d'avortement contagieux ». L'intensité de l'excrétion rend compte de l'importance de la contagion en période de mise-bas (Ganiere J.P., 1990). Il est expulsé au moment de l'avortement ou à l'occasion d'une mise-bas apparemment normale ;

- **Sécrétions vaginales :**
  leur rôle est surtout reconnu dans la période qui précède et qui suit un avortement, une mise-bas ou en période d'œstrus. En raison du tropisme génital des *Brucella*, les sécrétions vaginales peuvent représenter une matière virulente importante (Ganiere J.P., 1990) ;

- **Sperme :**
  la localisation des *Brucella* dans les organes génitaux du mâle permet leur excrétion dans le sperme, même en l'absence de symptômes (Ganiere J.P., 1990). Ce mode de transmission impose donc une surveillance stricte dans le cadre de la monte et l'insémination artificielle ;

- **Colostrum et lait :**

  les *Brucella* sont excrétées dans le lait pendant un délai variable après la mise-bas (quelques jours à toute la période de lactation). Cette sécrétion peut être discrète ou importante, intermittente ou continue. 20 à 60 % des vaches sérologiquement positives, sans symptômes de brucellose, éliminent le germe dans le colostrum et le lait, ce taux s'élève à 70-80 % après un avortement ;

- **Urine :**

  elle est fréquemment virulente au moment de l'avortement par contamination au contact des secrétions utérines infectées (Ganiere J.P., 1990) ;

- **Fèces :**

  elles permettent parfois chez le jeune, nourri avec du lait infecté, une dissémination transitoire de l'agent infectieux (Ganiere J.P., 1990) ;

- **Produit de suppuration :**

  Les *Brucella* sont excrétées dans le produit de suppuration. Les hygromas rencontrés par exemple chez les bovins peuvent renfermer d'importantes quantités de germes, éventuellement libérées à la suite de ponctions (Ganiere, 1990) ;

- **Matières virulentes internes :**

  c'est-à-dire, viscères en période de brucellose aigue, sang en phase de bactériémie, voir les viandes, qui ne jouent de rôle éventuel que dans la contamination humaine (Ganiere J.P., 1990). Les *Brucella* peuvent être présentes dans la mamelle, les os, la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques des carcasses infectées, et ce pendant plus d'un mois après l'abattage ;

- **Milieu extérieur contaminé :**

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

IV.5. Mode de transmission

IV.5.1. Transmission de la brucellose entre animaux

La transmission entre animaux peut être directe, de manière horizontale et verticale, ou indirecte à partir de l'environnement.

Chez un animal infecté, les *Brucella* sont excrétées dans l'environnement *via* le lait, l'urine, les fèces, les secrétions vaginales, mais aussi *via* les produits d'avortement tels que le placenta et le fœtus (Acha et Szyfres, 2005 ; Smith et Sherman, 2009). Un animal brucellique peut rester excréteur pendant plusieurs mois (Scott, 2015). Les agneaux et chevreaux de mères infectées peuvent également être une source émettrice de *Brucella*. Les autres animaux du troupeau peuvent alors se contaminer par voie orale ou naso-pharyngée, à partir d'aérosols émis dans les pâtures, les fourrages ou l'eau de boisson (Acha et Szyfres, 2005).

Lorsqu'il n'ya pas d'avortement, la contamination verticale peut se faire *in utero* ou lors du passage du nouveau-né dans la filière pelvienne, mais aussi lors d'ingestion du colostrum et du lait contaminé par les nouveau-nés. (Diaz E., 2013). En général, l'animal jeune se débarrasse de la bactérie. Cependant, chez certains veaux nés de mères infectées, l'infection peut persister mais sans déclencher de réponse sérologique, qui n'apparaitra alors que chez les femelles lors de leur première gestation (Gagnière et al**.,** 2010).

IV.5.2. Transmission de l'animal à l'homme

La brucellose peut être transmise à l'homme par contact avec des animaux infectés, par inhalation ou ingestion de bactéries, notamment lors d'avortement brucellique (Szyfres et Acha, 2001). Ceci en fait une maladie avant tout professionnelle, représentant un risque pour les éleveurs, vétérinaires, employés d'abattoirs et toute personne rentrant en contact avec des animaux de rente (Besheshi et al., 2010 ; Kutlu et al., 2014). La transmission de la brucellose à la population générale est également rendue possible par l'ingestion de lait cru ou de produits laitiers confectionnés à partir de lait non pasteurisé (Corbel, 2006).

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, on estime que 43 à 50% des cas de transmission zoonotique de brucellose sont consécutifs à un contact direct avec des animaux infectés et que 44 à 51% sont dus à une contamination par voie alimentaire dans les régions non-indemnes de brucellose (OMS, 2015).

V. PATHOGENIE

La pénétration de la bactérie se fait généralement *via* la muqueuse orale, du naso-pharynx, des conjonctives, par voie génitale et, parfois, par des lésions cutanées. Il se produit alors une réaction inflammatoire aiguë de la sous muqueuse avec infiltration de leucocytes (granulocytes neutrophiles et monocytes), puis il y a extension par voie lymphatique aux nœuds lymphatiques locaux.
L'infection brucellique est une infection chronique qui évolue en deux périodes :

V.1. Période primaire : suite à la contamination, il y a d'abord une multiplication des *Brucella* dans les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation, où les bactéries peuvent persister pendant très longtemps. Ensuite, si les *Brucella* ne sont pas éliminées, il se produit une dissémination, par voie lymphatique et dans une moindre mesure par voie sanguine. L'animal présente alors une bactériémie qui peut mener à l'infection de nombreux tissus: tissus lymphoïdes (surtout les nœuds lymphatiques de la sphère génitale), placenta des femelles gravides, testicules et leurs annexes, glande mammaire, bourses séreuses et synoviales et certaines articulations. Parfois, des manifestations cliniques se déclarent alors, caractéristiques de la brucellose aiguë: avortement, orchite… etc. (Sibille M.A., 2006).

V.2. Période secondaire : elle est marquée par un état de résistance de l'hôte, grâce au développement d'une immunité, qui ne mène que rarement à la guérison. En effet, les *Brucella* peuvent survivre plusieurs années dans certains sites, comme dans les nœuds lymphatiques, demeurant à l'intérieur des cellules phagocytaires, à l'abri du complément et des anticorps. Leur réactivation est possible à chaque gestation, entraînant alors un avortement et/ou une excrétion de bacilles au cours de la mise bas. Lorsque des bactéries persistent au niveau des séreuses et des articulations, un hygroma ou une arthrite chronique peuvent se développer. (Sibille M.A., 2006).

V.3. Pathogénie de l'avortement lors d'atteinte à *Brucella* : l'avortement est le plus souvent provoqué par une placentite exsudative et nécrotique, due à la multiplication des bactéries dans l'espace utéro-chorial. En effet, cette inflammation entraîne un décollement utéro-chorial, ainsi que des adhérences fibreuses entre l'utérus et le placenta. Lorsque ces lésions sont étendues, elles empêchent donc les échanges nutritifs et le fœtus meurt d'anoxie, engendrant l'avortement. Si elles sont plus limitées, l'infection placentaire autorise alors la survie du fœtus, mais le nouveau-né meurt généralement dans les 48 heures après la mise-bas, à cause de lésions cérébrales d'origine hypoxique. Enfin, les adhérences utéro-placentaires sont souvent responsables de rétentions placentaires chez les femelles infectées. Parfois, l'avortement est dû à des bactéries passant dans le liquide amniotique, et ingérées par le fœtus, provoquant une septicémie mortelle.

Une femelle infectée n'avorte en général qu'une fois (dans 80% des cas), mais elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions génitales au cours des vêlages suivants.

Certaines vaches non gestantes peuvent résister à l'infection, grâce à la survie de *Brucella abortus* dans le compartiment intracellulaire des macrophages. Beaucoup de ces vaches développent alors des réactions sérologiques transitoires de faible amplitude, signant une absence de stimulation antigénique continue. Ces animaux sont donc dangereux car sans anticorps spécifiques mais porteurs de bactéries (Sibille M.A., 2006).

VI. ETUDE CLINIQUE CHEZ LES BOVINS

VI.1. Espèces de *Brucella* en cause

B.abortus est le principal agent de la brucellose bovine. Lorsque les bovins partagent les mêmes pâturages et les mêmes installations que des caprins, ovins et porcs infectés, ils peuvent également être infectés par *B.melitensis* et *B.suis.* Les souches brucelliques hétérologues provoquent des maladies plus éphémères que celle causée par *B.abortus.* Par contre, elles représentent un réel danger pour la santé publique, car ces *Brucella* qui sont pathogènes pour l'homme peuvent passer dans le lait de vache.

Les cas de bovins infectés par *B.suis* sont assez rares. Cependant, il a été observé dans plusieurs pays des infections à *B.melitensis* qui ont une évolution similaire à celle due à *B.abortus*. (Acha and Szyfres, 2005).

VI.2. Durée d'incubation et symptômes

VI.2.1. Chez la femelle

Lors d'une infection naturelle, il est difficile d'évaluer la durée d'incubation de la maladie (de l'infection à l'avortement ou à la naissance prématurée). La période d'incubation varie en fonction de facteurs tels que la virulence et la dose infectante des bactéries, la voie d'inoculation et la réceptivité de l'animal. En effet, on a démontré expérimentalement que la période d'incubation est inversement proportionnelle au développement du fœtus : plus la gestation est avancée, plus la période d'incubation est courte.

Chez les femelles gestantes, le symptôme prédominant est l'avortement ou la mise-bas prématurée ou à terme, de veaux mort-nés ou affaiblis. En général, l'avortement se produit pendant la seconde moitié de gestation (du 5ème au 7ème mois), souvent avec rétention placentaire, provoquant une métrite, qui peut conduire à une stérilité permanente (Lounes N., 2016).

L'avortement et donc la fécondation différée occasionnent des pertes en production laitière de 20 à 25%, par suite de l'interruption de la lactation.

Figure 10 : Avorton de buffle suite à une infection par *Brucella abortus* (Megid et al.,2010)

Les femelles non gestantes ne présentent pas de symptômes cliniques et si elles sont infectées avant d'être saillies, il est fréquent qu'elles n'avortent pas (Lounes, N., 2016).

La brucellose bovine est une infection chronique. Bien qu'une vache malade n'avorte, en général, qu'une fois, elle reste infectée et peut excréter des bactéries dans le lait et les sécrétions du tractus génital au cours d'un vêlage ultérieur, apparemment normal. Le fœtus bovin est quant à lui, remarquablement sensible à l'infection brucellique. 2,5 à 9 % des jeunes femelles peuvent être infectées *in utéro* ou à la naissance et ne présentent des symptômes que lors d'une gestation ultérieure, à savoir un avortement au 6ème ou 7ème mois de gestation.

Parfois une réaction inflammatoire interstitielle légère peut être observée dans la glande mammaire, qui est associée à l'excrétion des bactéries dans le lait. Les macrophages des glandes mammaires peuvent fournir un environnement intracellulaire favorable pour la persistance de *B.abortus* dans la glande mammaire des vaches infectées de façon chronique (Megid et al., 2010).

VI.2.2. Chez le mâle

La durée d'incubation chez le taureau n'a pas été clairement déterminée. Des orchites dues à la souche vaccinale de *B.abortus* ont été observées 10 jours ou 7 mois après la vaccination (Megid et l., 2010).

Chez les taureaux, les *Brucella* se localisent dans les testicules et les autres organes génitaux. L'infection se manifeste par l'hypertrophie de l'un ou des deux testicules (orchite), entrainant l'infécondité. Parfois, un testicule peut s'atrophier suite à des adhérences et de la fibrose.

On remarque souvent l'infection de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate. Des hygromas uni ou bilatéraux, en particulier au niveau de l'articulation du carpe peuvent se rencontrer chez 66% des animaux lors d'infections chroniques (Godfroid et al., 2003), de l'arthrite est parfois observée (Acha and Szyfres, 2005 ;Megid et al.,2010).

Figure 11 : Nécrose du testicule (droit) chez un taureau atteint d'une orchite unilatérale suite à une infection par *Brucella* abortus (Megid et al., 2010).

VII. DIAGNOSTIC

VII.1. Diagnostic clinique

La suspicion de la brucellose doit se faire dès qu'il y a une flambée d'avortements dans un troupeau. L'orchite ou l'épididymite chez le mâle forment également un signal d'alerte, tout comme la mort d'un veau dans les 48 h après la naissance présentant des symptômes d'anoxie et un taux élevé des rétentions placentaires (Gagnière J.-P. et al., 2010).
Ce pendant, aucun de ces symptômes n'est pathognomonique et les examens complémentaires sont donc indispensables (Garin-Bastuji, 2003 ; Godfroid J., et al., 2013).

VII.2. Diagnostic expérimental

Le diagnostic clinique de la brucellose n'étant pas simple, le recours à des méthodes de laboratoire est essentiel afin de confirmer la suspicion (Freycon P., 2015).

Le diagnostic peut se faire de manière directe ou indirecte. Les anticorps sont parfois décelables chez un bovin pubère à partir de 30 jours après infection, et perdurent toute la vie de l'animal (Gagnière et al., 2010).

Le test diagnostique utilisé doit tenir compte de la situation épidémiologique.

VII.2.1. Examen direct

Pour l'examen direct, le placenta, les sécrétions vaginales et le lait sont les principaux prélèvements utilisés en fonction des signes cliniques. Cependant, l'avorton en entier, s'il est petit, peut également être utilisé. S'il est déjà de grande taille, son contenu stomacal, ses poumons et sa rate peuvent suffire. Néanmoins, l'avorton est souvent contaminé par la flore de l'environnement. Couramment, un écouvillon du col de l'utérus est réalisé.

Sur les carcasses, on peut prélever les testicules en cas d'orchite chez le mâle, la rate et les nœuds lymphatiques. Tous les prélèvements doivent être effectués de façon stérile, et placés dans des récipients hermétiques stériles.

VII.2.1.1. La coloration de Stamp se fait sur frottis ou sur des calques d'organes ou de produits d'avortement, suivie d'un examen microscopique. Son coût est faible et sa réalisation est rapide, mais cette technique est peu sensible et peu spécifique. En effet, les C*hlamydophila,* les *Rickettsiales* et *Coxiella burnetii* ont les mêmes affinités tinctoriales que les *Brucella* (Garin-Bastuji, B., et al.,2006 ; Garin-Bastuji, 1993).

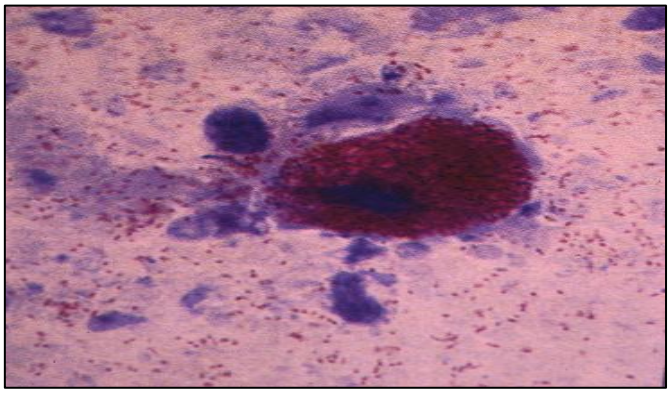


Figure 12 : Observation microscopique de *Brucella* après coloration de Stamp (Freycon, P. 2015).

VII.2.1.2. La mise en culture : se fait sur milieux solides sélectifs à fin d'isoler et d'identifier le genre et l'espèce de *Brucella*. Mais, souvent les prélèvements sont contaminés et d'autres bactéries se développent avant les *Brucella* dont la croissance est lente. Les milieux sélectifs utilisés sont complémentés en antibiotiques pour inhiber la croissance des bactéries contaminantes et permettre uniquement la croissance des *Brucella*. Le milieu de Farrell est souvent utilisé (Garin-Bastuji, B., et al., 2006).

De plus, certains prélèvements sont plus pauvres en bactéries que d'autres, comme le lait, pour lequel une centrifugation peut alors être réalisée afin d'augmenter les chances de détection de la bactérie.

En général, après deux à trois jours d'incubation, les colonies de *Brucella* commencent à être visibles. Après le quatrième jour d'incubation, les colonies font 1 à 2 mm de diamètre et leur surface est lisse ou rugueuse selon leurs propriétés (Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare., 2001). Cependant, il faut attendre 8 à 10 jours pour déclarer une culture comme négative en l'absence de colonies (Haddad N. et al., 2010).Cette analyse doit être réalisée dans un laboratoire de biosécurité de niveau 3 du fait du caractère zoonotique de ces bactéries.

L'identification de l'espèce de *Brucella* mise en évidence se fait grâce à de nombreux tests comme la catalase, l'oxydase, l'action des phages et l'agglutination par les sérums anti-M et anti-A pour déterminer toutes les caractéristiques de la souche en présence (Godfroid, et al., 2013 ;Garin-Bastuji, 1993). L'identification de l'espèce peut aussi se faire par PCR et séquençage après culture.

VII.2.2. Examen indirect

L'examen indirect se fait par sérologie sur sang prélevé sur tube sec, sur le lait de mélange prélevé directement dans le tank, ou par test allergique. L'examen indirect est un diagnostic sérologique permettant la mise en évidence d'anticorps anti-LPS (anti-Lipopolysaccharide). Cependant, les tests sérologiques ne permettent pas d'identifier l'espèce de *Brucella* qui est en jeu. Ils doivent être suivis d'un test direct en cas de positivité. Les méthodes les plus utilisées sont :

VII.2.2.1. L'EAT (épreuve à l'antigène tamponné) : appelée aussi **Rose Bengale**, est un test très sensible qui détecte précocement l'infection, mais peu spécifique, avec l'apparition de faux positifs. Cette méthode est efficace en cas de surveillance, car elle détecte très bien les troupeaux infectés. Néanmoins, les résultats sont parfois positifs pour des cheptels indemnes, cette épreuve doit donc être complétée par un autre test plus spécifique (Laudat, P., et al., 1987). L'EAT détecte les anticorps sériques dirigés contre le LPS (lipopolysaccharide), produits dès les premières phases de l'infection, les anticorps IgM principalement, mais également les IgG1. Ils sont mis en évidence par interaction avec un antigène brucellique coloré au Rose de Bengale mis dans un milieu acide tamponné.

VII.2.2.2. La FC : (fixation du complément) est plus spécifique que l'EAT car elle présente moins de faux positifs, mais la détection de l'infection est plus tardive (Garin-Bastuji, B., 2003). Elle détecte les anticorps fixant le complément produits lors de phases plus anciennes de la maladie notamment les IgG1.

La FC qui présente parfois des résultats faux négatifs sur des cheptels infectés, est moins sensible que l'EAT. Ces deux tests se contredisent parfois. Chez les cheptels fortement atteints, les animaux récemment infectés vont réagir positivement à l'EAT, mais négativement à la FC.

En zone infectée, l'EAT est plus souvent utilisée, alors que dans les zones indemnes, l'EAT et la FC sont associées. L'utilisation des deux tests ensemble permet d'augmenter la sensibilité du dépistage et de détecter plus facilement les cheptels infectés.

VII.2.2.3. L'ELISA indirect : Le titrage immun-enzymatique est un outil de recherche de grande valeur, pouvant utiliser des antigènes de *Brucella* purifiés et des réactifs anti-immunoglobulines spécifiques et sensibles, ce qui permet de titrer les classes et les sous-classes d'anticorps anti-*Brucella* à l'égard d'antigène défini.

L'ELISA indirect a fait l'objet de plusieurs travaux durant ces dix dernières années. Très sensible, semble être moins spécifique que l'EAT et la FC. Elle ne fait l'objet d'une standardisation internationale est n'est donc pas reconnue comme test officiel.

L'ELISA peut être réalisée sur sérum individuel, sur mélanges de sérums (mélange de dix sérums) ou sur le lait. Son avantage par rapport à la FC est d'être automatisable, ce qui permet sa mise en route aisée pour confirmer un résultat douteux ou positif a l'EAT.

VII.2.2.4. Réaction d'hypersensibilité retardée (HSR) : aussi appelée ECA (épreuve cutanée allergique à la brucelline) ou l'IDR (intradermoréaction)

La brucelline est un allergène destiné au diagnostic de la brucellose par la mise en évidence d'une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée chez les animaux sensibilisés par l'infection. La brucelline est un extrait protéique de *Brucella* en phase R capable de provoquer une réaction d'HSR sans amener l'élévation des titres en anticorps, et dépourvus du LPS responsable de la formation d'anticorps décelables par sérologie. L'injection de ce produit ne provoque pas de réaction chez des animaux indemnes de brucellose et n'ayant pas été vaccinés. La spécificité de l'ECA est excellente.

VII.2.2.5. Le ring test (RT) : ou test de l'anneau, n'est utilisable que pour le lait de bovins. Il est cependant de moins en moins utilisé. Il s'agit d'une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait, les IgG1, IgM et surtout les IgA sécrétoires, dirigés contre le LPS bactérien, avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Les agglutinats ainsi formés se lient aux globules gras qui remontent à la surface du lait formant ainsi un anneau coloré, si le test est positif (Nielsen, K., 2002). Le RT est utilisé pour confirmer un résultat douteux obtenu en ELISA (Gagnière J.-P. et al., 2010).Cette méthode manque de sensibilité surtout lors d'infections récentes. La qualité du lait influe sur le résultat, comme avec le lait de mammite, le colostrum ou le lait de fin de lactation (Boraker, D., Stinebring, W. et Kunkel, J., 1981). Il est préférable d'utiliser ce test sur un mélange de lait issu de moins de 80 bovins, au-delà la sensibilité du test diminue du fait de la dilution (Garin-Bastuji, B., 1993).

VIII. TRAITEMENT

VIII.1. Brucellose bovine

Brucella.spp étant sensible aux antibiotiques, notamment à la tétracycline (**Tableau 3**), le traitement est théoriquement possible. Mais il est interdit en raison des risques d'apparition de résistance, de l'absence de garantie quant au statut infectieux d'un animal traité, et donc le risque de maintenir vivants des animaux infectés pouvant transmettre la maladie à l'homme et à d'autres animaux ; ceci est rarement pris par les autorités d'un pays (Ai *et al.*, 1992 ;Smith et Sherman, 2009).

Tableau 03 : antibiotiques actifs *in vitro* et efficacité *in vivo* sur *Brucella*.spp (Lavigne et al., 2011).

Familles d'antibiotiques actives in vitro	Efficacité in vivo	Molécules à utiliser
β – lactamines	+	Pénicilline A, céphalosporines de 3e génération (céfotaxime et ceftriaxone), imipenème
Macrolides	+	Azithromycine, érythromycine
Chloramphénicol	+	Chloramphénicol
Sulfamides	**V[a]**	Cotrimoxazole
Aminosides	+++	Gentamicine, nétromycine, tobramycine,streptomycine
Tétracyclines	++++	Doxycycline
Rifampicine	+++	Rifampicine
Fluoroquinolones	+	Ciprofloxacine , ofloxacine

VIII.2. Brucellose humaine

Le traitement de la brucellose humaine repose essentiellement sur l'usage d'antibiotiques, notamment lors des phases aigues ou subaigües où plusieurs protocoles recommandés sont possibles combinant la doxycycline à la streptomycine, la gentamycine ou la rifampicine (Solera., 2010).

L'efficacité du traitement dépend de la combinaison d'antibiotiques utilisée et de la durée du traitement (Seleem et al., 2010). Si l'antibiothérapie est mal conduite, cela peut favoriser la persistance des bactéries dans les nœuds lymphatiques et l'installation d'infections latentes (Fournier V., 2014).

IX. PROPHYLAXIE

La stratégie de lutte choisie contre la brucellose dépend de la prévalence de l'infection. Dans les zones très infectées, il faut tout d'abord mettre en place une stratégie permettant de réduire l'incidence et la prévalence de la maladie. En effet, il sera difficile de trouver des animaux sains pour reformer les cheptels après abattage total des troupeaux infectés. Une vaccination peut alors être mise en place en parallèle d'un dépistage des animaux infectés avec un abattage de ceux-ci. Le problème de la vaccination est qu'elle induit la production d'anticorps non différenciables des anticorps induits lors d'infection naturelle lors des tests sérologiques utilisés pour le dépistage. Les éleveurs doivent alors être informés de l'enjeu de cette lutte pour qu'ils soient coopératifs et mettent en place de bonnes pratiques d'élevage. Les services vétérinaires et les laboratoires doivent être bien organisés afin de pouvoir gérer les nombreux tests de dépistage (Minas, 2006).
Lorsque la prévalence et l'incidence ont diminué jusqu'à des taux acceptables, l'abattage total des troupeaux infectés peut être mis en place afin de s'approcher doucement de l'éradication de la maladie (Alvarez, et al., 2011). Le type d'élevage est très important : des élevages confinés vont être plus faciles à gérer que des élevages pratiquant la transhumance ou le pâturage collectif. Les mouvements d'animaux doivent être contrôlés et les animaux identifiés individuellement (Minas, A., 2006). Les contrôles sérologiques doivent être répétés sur la durée à cause des formes latentes de la maladie (Garin-Bastuji, B., 1993).

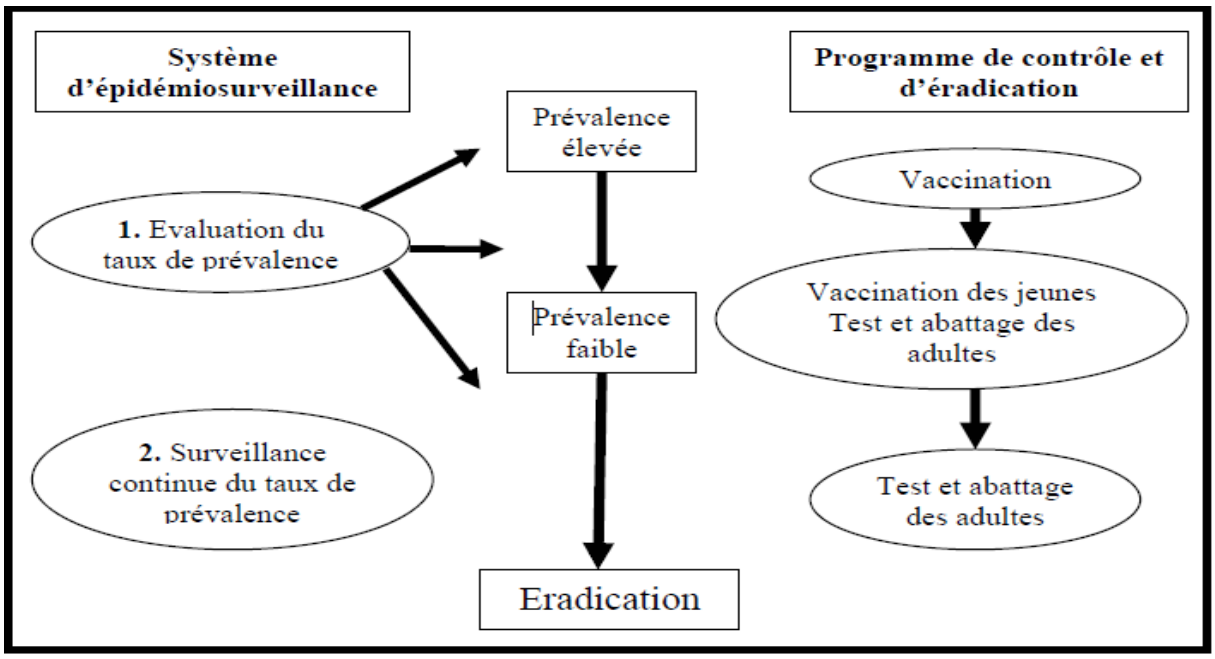


Figure 13 : Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose (SIBILLE C., 2006)

En Algérie, un programme national pluriannuel de lutte contre la brucellose a été lancé par les services vétérinaires. Il est basé sur la prophylaxie sanitaire par des opérations de dépistage et de contrôle du cheptel et sur des opérations de police sanitaire. Il consiste en (Lounes, N., 2009) (**voir annexe**) :

- brucellose, maladie animale à déclaration obligatoire ;
- tout animal de l'espèce bovine qui avorte est considéré comme suspect de brucellose et doit faire l'objet de déclaration et de prélèvement pour analyses complémentaires ;
- les épreuves de diagnostic retenues sont: l'épreuve à l'antigène tamponné, la réaction de fixation du complément comme test de confirmation chez les bovins et le ring test ;
- un cheptel est reconnu indemne si aucune manifestation clinique de brucellose n'a été notée depuis 12 mois, avec au moins 2 épreuves sérologiques négatives à l'E.A.T et pratiquées à un intervalle de 6 mois sur tous les animaux âgés de plus de 12 mois pour les bovins et de plus de 6mois pour les caprins ;
- dès qu'un foyer de brucellose est confirmé: recensement des animaux de toutes les espèces, les bovins de plus de 12 mois subissent un contrôle sérologique; et isolement des animaux atteints ;

- les animaux positifs sont éliminés par un abattage sanitaire.
- les propriétaires d'animaux abattus bénéficieront d'une indemnisation relevée de 20 à 35% de la valeur bouchère de l'animal et ne concernera que les femelles en âge de reproduction. ; les animaux mâles ne seront pas concernés par l'indemnisation.
- l'exploitation concernée est séquestrée, subit une désinfection et est contrôlée sérologiquement dans un délai de 2 mois ;
- l'introduction d'animaux dans l'exploitation n'est possible qu'après un contrôle favorable au minimum 12 mois plus tard ;
- le lait ne peut être utilisé et vendu cru. L'évolution du taux d'infection de la brucellose bovine depuis le début du programme montre une certaine amélioration. Le taux est passé de 1,70% en 1995 à 0,67% en 2004.

Depuis le début du programme jusqu'à 2004, le dépistage a touché 848 931 têtes bovines dont 8888 se sont révélées positives. On constate que chaque année une moyenne de 100 000 bovins sont dépistés, et une moyenne de 400 foyers et 800 cas déclarés. Le taux moyen de positivité durant cette décennie n'excédait pas 0,78% (D.S.V, 2005).

La lutte contre la maladie animale est la base incontournable de la prévention de la brucellose humaine. En effet, seule l'éradication de l'enzootie peut éviter la contamination de l'homme, sachant qu'un seul animal malade dans un troupeau expose l'éleveur, les agents vétérinaires et les consommateurs potentiels du lait et de ses dérivés (Encyclopédie Médico-chirurgicale).

CHAPITRE III :

Bartonella spp. et *Brucella spp.* : Armes communes d'attaque

Les bactéries du genre *Bartonella spp*.et *Brucella spp.* évolues à partir d'un ancêtre commun appartenant à l'ordre Rhizobiales des α-proteobactéries **(Figure 14)** (Gillespie et al. 2011), il comprend des micro-organismes qui se sont développés avec des hôtes animaux ou végétaux soit comme agents pathogènes, soit sous forme de symbiotes.

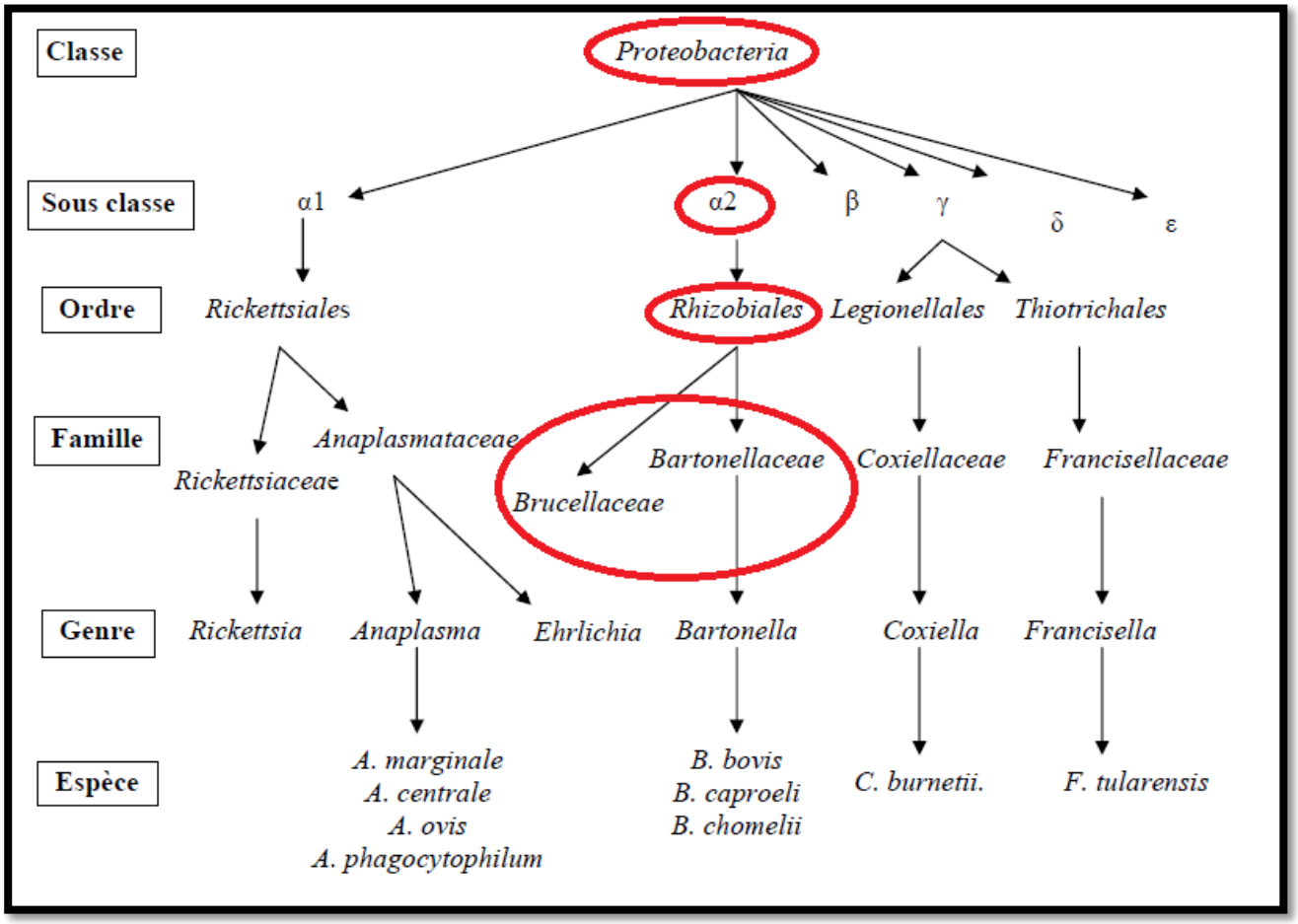


Figure 14 : Classification simplifiée des deux familles : *Bartonellaceae* et *Brucellaceae* (Larpent, 2000 ; Perry et al., 2002).

Chaque espèce des genres *Bartonella* ou *Brucella* infecte un ou plusieurs mammifères étroitement liés en tant qu'hôte (s) réservoir dans lequel elles persistent et suscitent divers résultats d'infection (sauf pour *Bartonella bacilliformis* et *Bartonella quintana* qui font l'exception, en effet l'humain est l'unique réservoir pour ces deux espèces) (Maguina et al., 2009).

Bartonella spp. et *Brucella spp*. sont des agents pathogènes étroitement liés qui, par des stratégies distinctes d'attaque furtive, provoquent des infections chroniques chez les mammifères, y compris les humains. Les infections humaines se manifestent par un large éventail de symptômes cliniques, allant de la maladie légère à la maladie mortelle. Les deux agents pathogènes établissent des niches de réplication intracellulaire et subissent diverses voies du système immunitaire de l'hôte. Plusieurs facteurs de virulence leur permettent d'adhérer, d'envahir, de proliférer et de persister dans différents types de cellules hôtes. En particulier, les systèmes de sécrétion de type IV (T4SS) représentent des facteurs de virulence essentiels qui transfèrent des protéines effectrices conçues pour recruter des composants hôtes et moduler les processus cellulaires au profit des intrus bactériens.

Ces deux genres bactériens envahissent, par des mécanismes remarquablement analogues (Batut et al. 2004), différents types de cellules en utilisant :

- des molécules de surface cellulaire qui interviennent dans les interactions hôte-pathogène, telles que les protéines d'adhésion et les récepteurs du côté bactérien et hôte, respectivement ;
- des systèmes de sécrétion de type IV (T4SS) qui traduisent des protéines bactériennes appelées effectrices (Backert et Meyer 2006 ; Llosa et al., 2009). Il est important de noter que les effectifs perturbent le mécanisme intracellulaire et les réponses immunitaires innées et acquises (Roop et al. 2009 ; Harms et Dehio 2012 ; von Bargen et al., 2012), ce qui permet de manœuvrer les processus hôtes en faveur du pathogène.

Bartonella et *Brucella* présentent des facteurs de virulence spécifiques qui sont essentiels à l'invasion des cellules hôtes **(tableau 04)**, il s'agit notamment du VirB T4SS et des molécules d'adhésion.

Tableau 04: Facteurs de virulence de *Bartonella spp*. et e *Brucella Spp*.
(Ben-Tekkaya et a., 2013)

	Bartonella	*Brucella*
T4SSs		
VirB	- Confined to lineages 3 and 4: VirB2–VirB11 and coupling - protein VirD4 - Essential for infection	- VirB1–VirB12 - Essential for infection
Vbh	- Confined to lineage 2 - Putative role in infection	___
Trw	- Confined to lineage 4 - Mediates erythrocyte invasion - Essential for persistance	___
VirB T4SS effectors	- Beps: inhibit apoptosis; promote angiogenesis; promote invasome formation in B. henselae	- Btp1: modulates microtubules' dynamics and -TLR4-mediated signaling - CstA: interacts with Sec24A - PrpA: elicits T-cell-independent IL-10 - secretion RicA: interacts with -Rab2-GDP - BPE005, BPE123, BPE275, BPE043, BvfA, VceA, VceC, BPE043, BPE152: unclear function
Regulatory systems		
Two- component regulatory systems (TC systems).	- BatR/BatS - Regulate essential gene transcription (i.e., virB)	- BvrR/BvrS - Regulate essential gene transcription (i.e., virB)
Quorum-sensing systems	___	- VjbR/BlxR - Regulate numerous genes (i.e., vceA, vceC)
Adhesion molecules		
Flagella	-Confined to lineages 1–3 -Mediate motility, erythrocytes' adhesion and invasion -Escape recognition by TLR5	- Act as T3SS? - Essential for virulence

Trimeric autotransporters	-BadA, Vomps. -Essential for infection.	-Bta E. -Essential for infection.
Hemin-binding proteins	-Hbp. -Essential for growth.	-OMP25/30/
LPS		
Lipid A	-Pentaacylated with long fatty acid side chain. -Inhibits TLR4 proinflammatory response and promotes interaction with DCs.	-Heptaacylated with long fatty acid side chain. -Inhibits TLR4 proinflammatory response.
Core-polysaccharide	-Uncharacterized function(s)	-Inhibits complement activation and DC's maturation.
***O*-polysaccharide**	-Uncharacterized function(s)	-Inhibits T-cell activation.

Partie 02: Etude expérimentale

CHAPITRE I :

Matériel et méthode

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Cette étude a pour objectif de :

- définir le pourcentage de l'infection simultanée par *Bartonella bovis* et *Brucella spp.* chez des bovins, en utilisant la technique d'IFI, et la nécessité de tenir compte de cette interaction si elle est présente ;
- déterminer les facteurs de risque pouvant influencer la corrélation positive de l'infection par ces deux bactéries en étudiant les paramètres : sexe, âge et race.

II. MATERIEL ET METHODE

II.1. Nature des prélèvements

Les sérums que nous avons testés nous ont été remis par l'INMV. Ils ont été obtenus lors de la campagne nationale du dépistage de la brucellose et sont reconnus positifs à la brucellose par l'épreuve du Rose Bengale et par la FC.

II.2. Matériel utilisé

Figure 15 : Matériel utilisé dans la technique d'immunofluorescence indirecte.

- Petits tubes stériles en verre (5ml).
- Porte tubes.
- Portoir en verre.
- Verrerie propre rincée à l'eau distillée.
- Deux micropipettes (100µl) et (1000µl).
- Embouts de Pipettes en plastique.
- Vortex.
- Agitateur magnétique.
- Boite d'incubation humidifiée.
- Incubateur réglé à 37°.

- Eau distillée.
- BPS (Phosphate Buffer Saline).
- Lames maison (Service de microbiologique, ENVA, France).
- Bleu d'Evans (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France).
- Conjugué (anti-IgG de bovin –Jackson ImmunoResearch, USA).
- Fluoprep (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France).
- Lamelles en verre (24×60mm).
- Liquide de montage.
- Huile à immersion.

II.3. Fabrication des lames de *Bartonella*

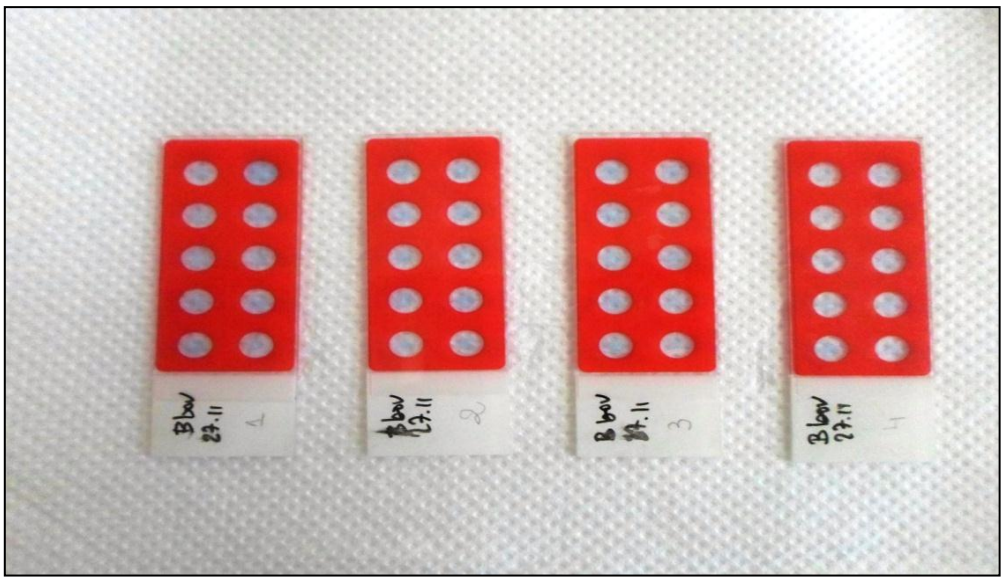


Figure 16 : Les lames d'immunofluorescence utilisées.

Les 40 sérums ont été analysés afin de rechercher des anticorps dirigés contre *Bartonella bovis*, en utilisant des lames fabriquées au service de microbiologie de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort, Paris (protocole de fabrication ci-dessous). La souche utilisée pour cette fabrication est la souche de référence : *B. bovis* (souche ATCC49882).

II.3.1. Technique de fabrication des lames de *Bartonella*

- **Culture et repiquage des cellules**

Les lames on été fabriquées à partir de cellules Véro (cellule de rein de singe vert, Sanofi-Pasteur).

Ce protocole trouve sa source chez Chomel et ses collaborateurs (1995). Les cellules sont conservées dans de l'azote liquide. La première étape consiste à cultiver les cellules dans un milieu de culture dont la composition est indiquée dans le tableau suivant.

Tableau 05 : Composition du milieu de culture pour les cellules Vero.

Composant	Volume (ml)
Milieu RPMI sans glutamine (Gibco)	**45**
Sérum de veau fœtal 5%	**2.5**
L-glutamine à 2 µmol/ml, 1%	**2**
Pénicilline à 100UI/ml – streptomycine à 100 µg/ml 1%	**0.5**

Deux flacons de cellules de 25 ml ont été placés à l'étuve à CO2 à 37°C. Le premier a été utilisé pour le repiquage et le second a été conservé en cas de problème de contamination. L'entretien de la culture s'effectue deux fois par semaine par repiquage après trypsination (0.05% EDTA et 0.02% de trypsine dans une solution saline, Gibco, USA) et dilution au ¼ des cellules.

- **Protocole utilisé pour la fabrication des lames**

Pour chaque série de lames, les étapes on été les suivantes :

1ère étape : un repiquage de l'espèce de *Bartonella* à tester a été réalisé. Après cinq jours de culture, une suspension bactérienne (équivalent d'une gélose) est réalisée dans 0.5 ml de solution saline. La suspension est transférée sur une culture de cellules Véro à 70% de confluence (flacon de 25 cm^2).

2eme étape : après 72h de culture, les cellules infectées sont trypsinées puis lavées dans 15 ml de milieu RPMI (centrifugation 200g pendant 10 minutes) à 5% de SVF (sérum de veau fœtal). Le

culot est repris dans 40 ml de milieu de culture (concentration cellulaire d'environ 10^5 cellule/ml). 40µl de la suspension cellulaire ont été déposés dans chaque puits de lames traitées au téflon (5% de CO2) pour 18h.

3eme étape : les lames on été lavées au PBS deux fois puis fixées a l'acétone pendant 20 minutes à température ambiante, séchées puis conservées au congélateur (-20°C).

- **Validation des lames**

Avant utilisation, les lames ont été observées au microscope (grossissement x 150) afin de vérifier que les puits contenaient des cellules et des bactéries. Elles ont ensuite été vérifiées avec des sérums préalablement testés. La lame était validée quand les témoins positifs et négatifs étaient valables et quand les sérums connus répondaient de la manière attendue.

II. 3.2. Lecture des lames

Chaque lame est lue par deux operateurs, de manière indépendante (lecture en double aveugle) et selon un barème prédéfini comme indiqué dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06 : Barème de lectures des lames d'immunofluorescence.

Résultat	Signification
0	**Contrôle négatif**
+	**Bactérie visible mais pas de fluorescence**
++	**Fluorescence présente mais modérée**
+++	**Fluorescence intense**
++++	**Fluorescence très intense.**

II.3.3. Analyses statistique

Les résultats obtenus ont été saisis et traités avec un système de gestion de base de données (Microsoft Excel 2007).

Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance (IC 95%).

Les facteurs de risques ont été étudiés avec les testes classiques : Chi2 et Fisher exact.

II.4. Analyse des prélèvements par l'IFI (Immunofluorescence indirecte)

II.4.1. Principe et avantages de l'IFI : (voir figure)

La technique de référence pour la mise en évidence des anticorps est l'immunofluorescence indirecte. Elle consiste à mettre en présence le sérum à tester et une préparation cellulaire, fixée sur une lame, présentant les antigènes potentiellement reconnus par les auto-anticorps (*Bartonella bovis* dans notre cas). Les anticorps (en marron) fixés spécifiquement sur les antigènes présentés sont révélés par fixation d'autres anticorps (en rouge) marqué à la fluorescéine. Les lames sont ensuite lues au microscope dont la lampe excite le fluorochrome qui émet à son tour dans le visible.
Les anticorps recherchés présentent différents sites de fixation qui permettent à plusieurs anticorps marqués de se fixer, ce qui augmente ainsi l'intensité lumineuse et facilite la lecture.

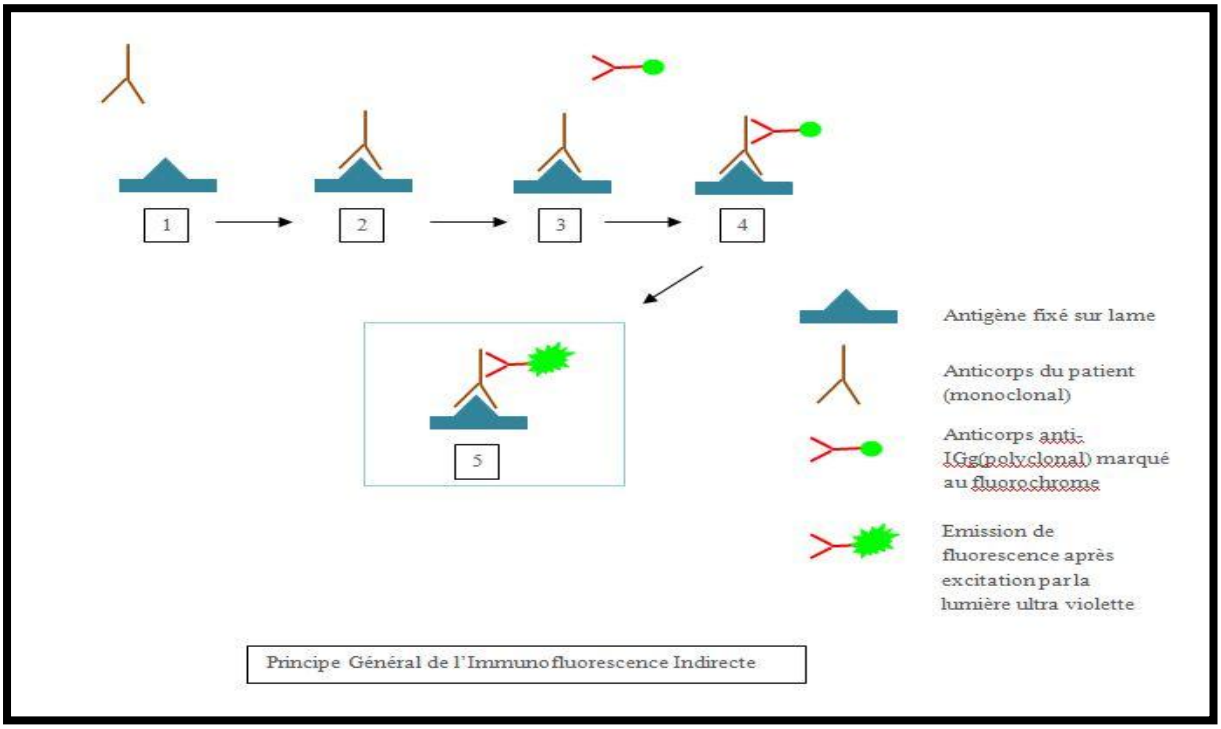


Figure 17 : Schéma illustrant le principe de la technique d'immunofluorescence indirecte

II.4.2. Technique

Les sérums sont décongelés à température ambiante. Une homogénéisation au vortex est réalisée pour chaque tube avant de prélever le sérum pour effectuer la dilution. Le criblage des sérums a été réalisé à la dilution du 1/50 (10µL de sérum dans 490µL de PBS).

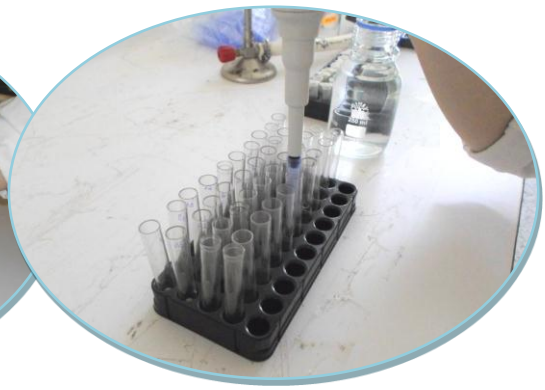
25µl du sérum dilué sont ensuite déposés sur chaque puits.

Les lames sont incubées 30 minutes à 37°C sous atmosphère humide. Faire sortir les lames, aspirer le sérum à l'aide d'une micropipette puis procéder à un rinçage de 10 minutes dans du PBS avec un agitateur magnétique. Sécher les lames. Le conjugué (anti-IgG de bovin –Jackson ImmunoResearch, USA), dilué au 50ème, est préparé à partir d'une solution de bleu d'Evans (Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, France) dans du PBS. 25µl de ce conjugué sont déposés dans les puits des lames. Ces dernières sont de nouveau incubées à 37°C sous atmosphère humide pendant 30 minutes. Un autre rinçage de 10 minutes est ensuite effectué. Puis, elles sont de nouveau séchées. Enfin, le montage des lames est réalisé.

Les lames ont été lues au microscope sous huile à immersion (grossissement 10x100) (Merck, Darmastadi, Allemagne) et à fluorescence.

Sérums à température ambiante

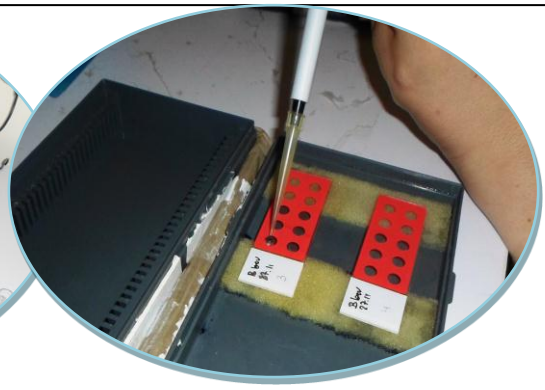
Homogénéisation au vortex



Ajout du PBS dans les tubes

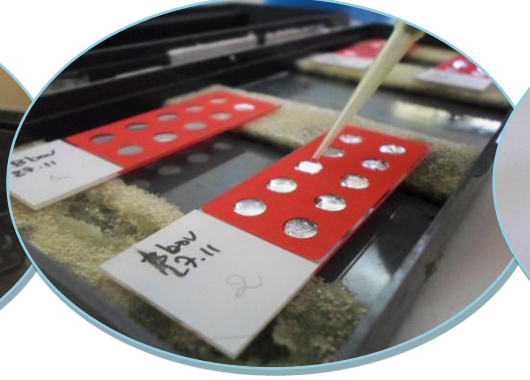
Dilutions des sérums dans le PBS

Vortexer



25µl de sérum dans chaque puits

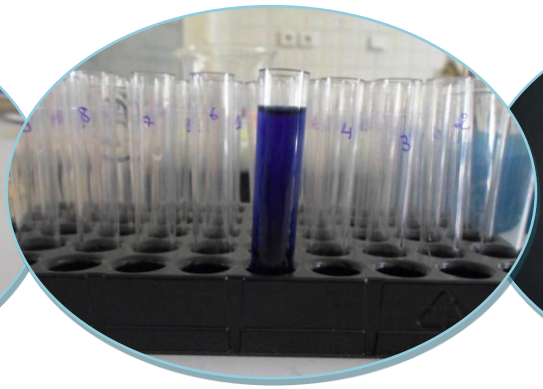
Incubation des lames à 37°C



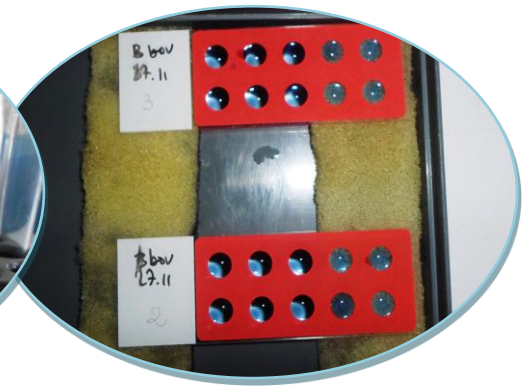
Aspirer le sérums

Rinçage des lames dans le PBS

Bleu d'Evans

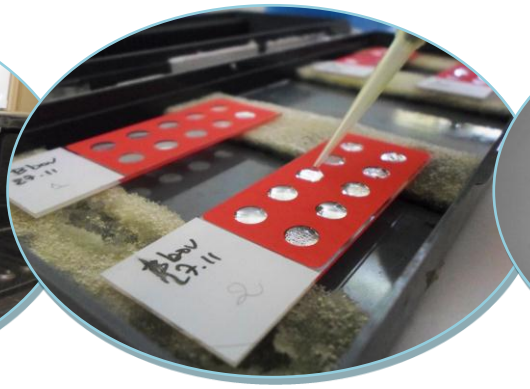


Préparation du conjugué



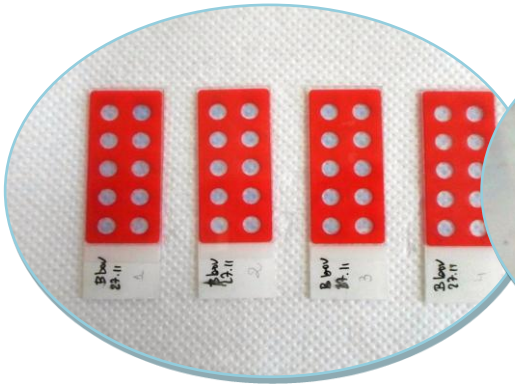
25µl du conjugué dans chaque puits

Incubation des lames à 37°C



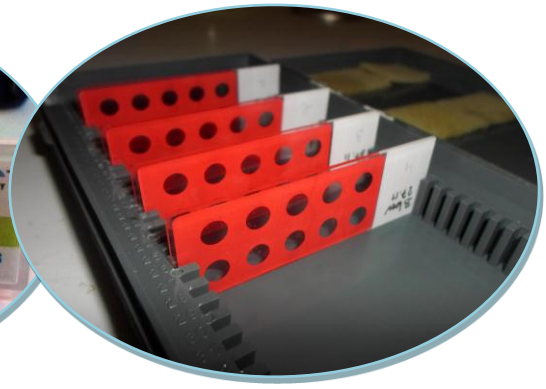
Aspirer le conjugué

Rinçage des lames dans le PBS



Séchage des lames

Montage des lames



Conservation des lames au frigo

CHAPITRE II : Résultats

I. Résultats

Tous les sérums testés ont été analysés en utilisant la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI). Cette méthode nous a permis de révéler une séropositivité simultanée vis-à-vis de *Bartonella bovis* et *Brucella spp.* Puis d'en étudier les facteurs de risque associés. Ainsi, au terme de cette étude nous avons décrit pour la première fois une infection simultanée par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* chez certains bovin testés.

II. Étude de la séroprévalence de l'association de l'infection par *Bartonella bovis* et *Brucella spp.*

La séroprévalence globale

Parmi les **40** sérums positifs à *Brucella* spp., **23** se sont révélés séropositifs à *Bartonella bovis* par immunofluorescence indirecte et au titre de 1/50 ce qui correspond à une séroprévalence globale de 57,5% avec un intervalle de confiance IC 95%. Ainsi, **17** (42.5%) sérums séropositifs à *Brucella spp.* ont été négatifs à *Bartonella bovis.*

Le nombre de séropositivité/séronégativité en fonction du barème utilisé est représenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 07 : Fréquence de la séropositivité et de la séronégativité des sérums analysés.

Résultats	nombre
Négatif (-)	**17**
Positif (+)	**0**
Positif (++)	**15**
Positif (+++)	**6**
Positif (++++)	**2**

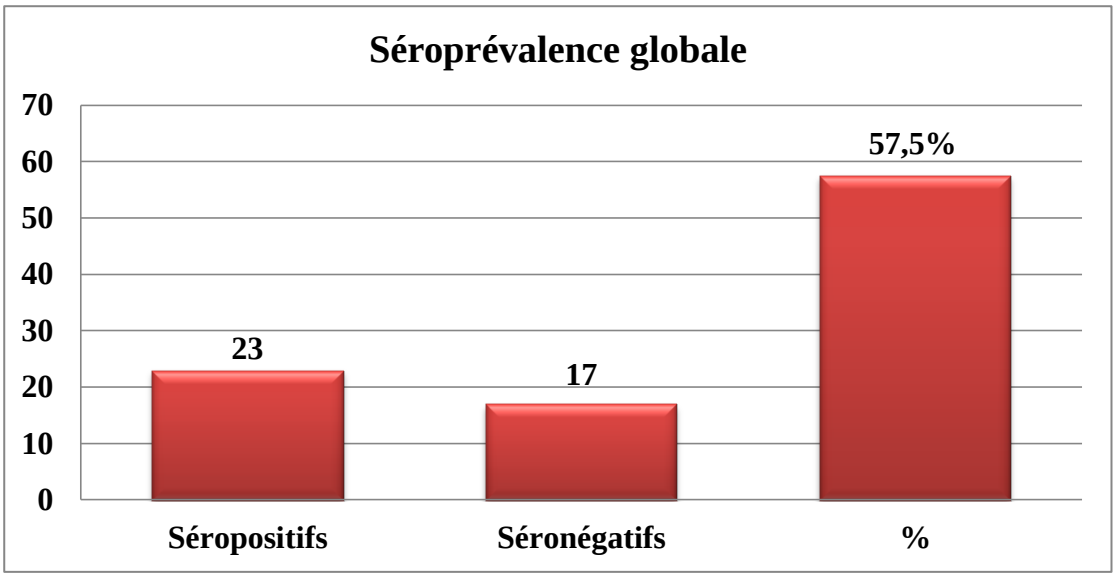


Figure 18 : Séroprévalence des coïnfections à *Brucella spp*. et *Bartonella bovis*.

III. Étude des facteurs de risque associés à l'infection simultanée par *Brucella* spp. et *Bartonella bovis*

Dans cette partie de l'étude, seuls **38** sérums ont été pris en considération en raison du manque de données concernant 2 sérums parmi le lot testé.

Tableau 08 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une coïnfection à *Brucella spp.* et *Bartonella bovis.*

Variables	Catégorie	Fréquences observées			Séroprévalence (%)	Valeur de P	Signification
		Total	Positive	Négative			
Sexe	Male	6	3	3	50 (10-90)	**0 ,68**	**NS**
	Femelle	32	19	13	59,37 (42,4-76,4)		
Age (mois)	05- 12	2	2	0	100	**0,64**	**NS**
	13-24	4	2	2	50 (1-99)		
	≥ 25	32	18	14	56,25 (39,1-73,4)		
Race	Holstein	9	3	6	33,33 (2,5-64,1)	**0,28**	**NS**
	Montbéliarde	16	10	6	62,5 (38,8-86,2)		
	Croisée	13	9	4	69,23 (41,1-94,3)		

Remarque : Pour que les résultats des tests Chi-2et Fisher exacte soient significatifs, la valeur de P doit être inférieure à 0,05.

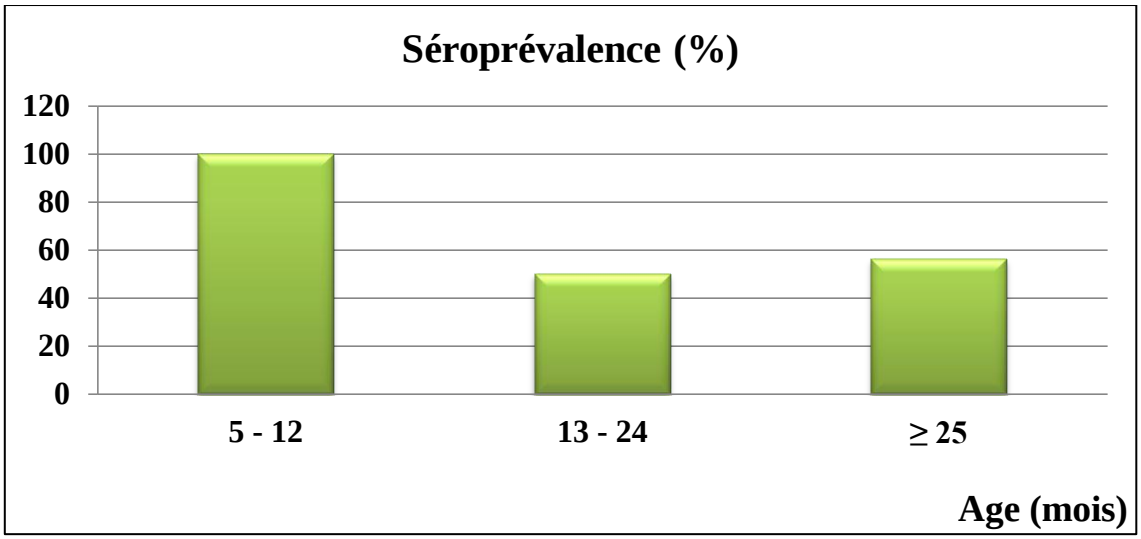


Figure 19 : Séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction de l'âge

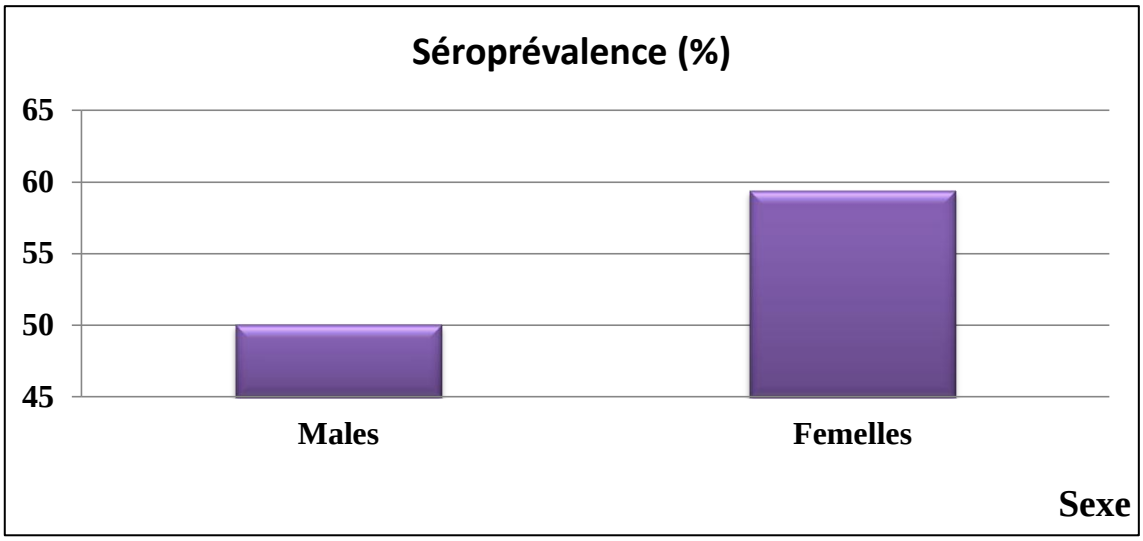


Figure 20 : Séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction du sexe

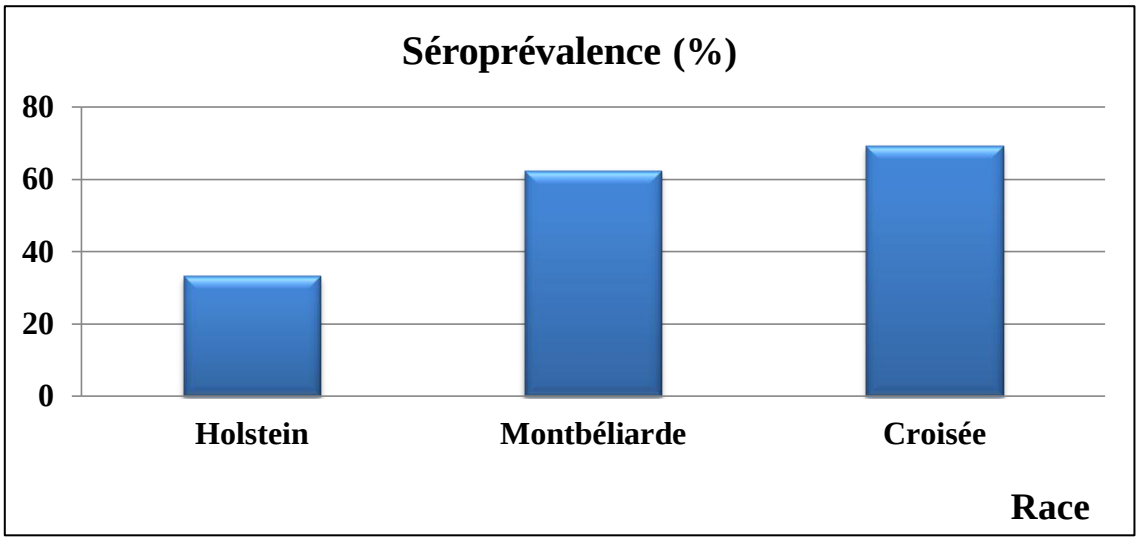


Figure 21 : Séroprévalence de la coïnfection par *Brucella spp.* et *Bartonella bovis* en fonction de la race.

CHAPITRE III : Discussion et Conclusion

En Algérie, différentes espèces de *Bartonella* ont été identifiées chez les carnivores domestiques tels que : *B. henselae, B.vinsonii subsp. Berkhoffii , B. rochalimae, B. clarridgeiae* , et *B.elizabethae* (Kernif et al., 2010; Azzag et al., 2015; Bessas et al., 2016) . Les espèces *B.elizabethae* et *B. tribocorum* ont été décrites chez le hérisson (Bitam et al., 2008) et chez certains rongeurs notamment *B.tamiae* chez la chauves-souris (Leulmi et al., 2016). D'autres espèces ont été isolées chez des arthropodes tels que : *B elizabethae* et *B. clarridgeiae* détectées dans les puces recueillies sur les hérissons. *Bartonella tribocorum, B. elizabethae* et *B. rochalimae* ont été isolées dans les puces recueillies sur des rats et des souris (Bitam et al., 2012). L'espèce *B. quintana* a été retrouvée chez les puces du chat *Ctenocephalides felis* (Kernif et al., 2014). Une enquête sérologique portant sur les infections à *B. bovis, B.chomelii* en Algérie a été réalisée par Boularias et ses collaborateurs (2017). Cependant à ce jour, aucune étude sur l'infection simultanée chez les bovins par les deux agents infectieux *Bartonella bovis* et *Brucella* spp en Algérie n'a été rapportée. Il s'agit donc d'une première étude.

Les bactéries incluses dans cette étude sont considérées comme majeures en médecine vétérinaire, d'une part en tant que germes pathogènes reconnus pour les bovins et d'autre part parce que les bovins sont considérés comme des réservoirs ou comme des sentinelles de ces agents zoonotiques. Nous avons réalisé une enquête sérologique chez des bovins contrôlés séropositifs à *Brucella spp.*

Les résultats de notre travail, montrent que ces deux agents pathogènes sont probablement largement distribués chez les bovins algériens.

Avant de faire l'analyse des résultats obtenus dans cette étude, il nous paraît nécessaire de discuter le protocole général de la technique utilisée, afin de faire ressortir ses avantages et ses limites.

L'immunofluorescence indirecte a été retenue dans le cadre de cette étude sur la population bovine. Cette technique permet d'obtenir des résultats rapides, facilement comparables et de faible coût de revient ce qui constitue des avantages majeurs dans le cadre d'un screening sérologique. De plus cette méthode, est considérée comme la méthode de référence, car elle est très sensible et assez spécifique. Ebani *et al*., ont montré que l'IFI avait une bonne spécificité lorsque les bovins séronégatifs étaient non bactériémiques et que cette technique était utile dans les enquêtes épidémiologiques (Ebani *et al*., 2012).

Cependant, il existe des facteurs limitant à la technique. Ainsi, la lecture des lames et l'interprétation des résultats représentent l'un de ses inconvénients. L'appréciation de l'intensité de la fluorescence est très subjective. Si les cas extrêmes ne posent pas de problèmes, les cas litigieux sont soumis à une vérification en double voire en triple aveugle.

Dans certains cas la lecture de nos lames s'est avérée difficile : la fluorescence était diffuse au niveau du cytoplasme et du noyau de la cellule.

D'autre part, le seuil de positivité convenu dans notre analyse était le 1/50ème. Selon les auteurs ayant réalisé des sérologies par immunofluorescence sur des chats ou des chiens, les seuils retenus pour définir un sérum comme positif sont soit le 1/50ème soit le 1/64ème. Ces seuils sont donc communément admis mais cela n'empêche pas les réactions croisées. En effet, la nature de l'antigène utilisé peut influencer la spécificité de la réponse sérologique et nous devons donc nous interroger sur l'antigénicité croisée qui peut subsister au sein des groupes bactériens analysés. Effectivement, des réactions croisées entre différentes espèces de bartonelles, entre différentes espèces d'*Anaplasma* ainsi qu'entre *Borrelia* et d'autres groupes de Spirochète ont été constatées et décris dans la littérature (Parola et Raoult, 2001). L'absence de réponse immunitaire hétérologue lors d'infections successives a également été observée.

Séroprévalence vis à vis d'une infection simultanée par *Bartonella bovis* et *Brucella spp.* et les facteurs de risque associés

Dans ce travail, nous avons testé par IFI, 40 sérums de bovins (séropositifs à *Brucella spp.*) vis-à-vis de *Bartonella bovis*. Le pourcentage de la coïnfection par les deux pathogènes était de 57.5%. La séroprévalence obtenue n'est pas associée à l'âge, la race et le sexe.

Les bactéries du genre *Brucella* appartiennent au groupe alpha des *Proteobacteria* (sous-groupe a2) et maintenant à la famille des *Rhizobiaceae*. Les espèces bactériennes, phylogéniquement les plus proches, sont les *Bartonella*, autres bactéries responsables de zoonoses. Le taux élevé de l'infection simultanée par ces deux pathogènes peut s'expliquer par le fait que *Brucella spp*. entrainerait une immunodéficience favorisant la colonisation par *Bartonella spp*. Il est évident qu'une étude plus approfondie est nécessaire pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

CHAPITRE IV : Perspectives

Notre travail pose un certain nombre de questions et nécessite des confirmations qui pourront faire l'objet de travaux ultérieurs :

- ✓ d'une part, la confirmation des études sérologiques chez les Bovins nécessite de rechercher par biologie moléculaire, la présence de *Brucella spp.* et *Bartonella bovis spp*. dans le sang. Si cette recherche s'avérait positive, le typage des souches de *Brucella* et de *Bartonella bovis* serait intéressant dans l'optique de statuer sur leur caractère zoonotique ;

- ✓ en parallèle, des études expérimentales devraient viser à mieux comprendre les relations entre ces deux agents infectieux et les facteurs favorisant la coïnfection.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- **Acha, P. N., et Szyfres, B. 2005**: Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux (Troisième éditions) (OIE, ed), vol. I. *Bactérioses et Mycoses*, pp. 26-52.
- **Adone, R., et Pasquali, P. 2013:** Epidemiosurveillance of brucellosis. *Revue scientifique et technique de l'OIE*. 32: pp. 199-205.
- **Aggad,H., Boukraa, L. 2006**: Prevalence of bovine and human brucellosis in western Algeria: Comparison of screening tests. East Mediterranean Health Journal.12: 119-128.
- **Akardjouje, C. 2003**: Etude de la biologie de l'infection à *Bartonella* de bovins du Pas de Calais. Ecole vétérinaire d'Alfort, 179p.
- **Alvarez, J. and al. 2011:** Management of an outbreak of brucellosis due to *Brucella melitensis in* dairy cattle in Spain. Research in veterinary science.90 : pp. 208-211.
- **Andersson,SG., Dehio, C. 2000**: *Rickettsia* prowazekii and *Bartonella henselae*: differences in the intracellular life styles revisited. *Int. J. Med. Microbiol*. 290:135–141.
- **Azzag, N**., **Petit, E., Gandoin, C., Bouillin, C., Ghalmi, F., Haddad, N., & Boulouis, H.J. 2015:** Prevalence of select vector-borne pathogensin stray and client-owned dogs from Algiers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious diseases.* 38, 1-7.
- **Backert, S., Meyer, T.F. 2006**: Type IV secretion systems and their effectors in bacterial pathogenesis. *Curr Opin Microbiol* 9: 207–217.
- **Barrat, F., Bermond, D., Bouillin, C. et al. 1999**: First international conference on *Bartonella* as emerging pathogens, abstract 22, p 47.
- **Batut, J., Andersson, S.G., O'Callaghan, D. 2004:** The evolution of chronic infection strategies in the α-proteobacteria. *Nat. Rev. Microbiol* 2: 933–945.
- **Beheshti, S., Rezaian, G.R., Azad, f., Faghiri, Z., Taheri, F. 2010:** Seroprevalence of brucellosis and risk factors related to high risk occupational groups in Kazeroon, South of Iran. *Int. J. Occup. Environ. Med.* 1: 62‑68.
- **Benelmouffok, A . 1970**: Survey of the present situation of bovine brucellosis in Algeria. *See comment in PubMed Commons below Arch Inst Pasteur Alger*.48: 207-209.
- **Benelmouffok A, Cherif, A., Taril, A. 1992:** La brucellose bovine en Algérie: dépistage sérologique de 1969 à 1992 et analyse des résultats, *Développement biologie Standard*. 56: 699-709.
- **Ben-Tekaya, H.,Gorvel, J.P. and Dehio, C. 2013.** *Bartonella* and *Brucella*—Weapons and Strategies for Stealth Attack. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 3(8): a010231.
- **Bermond, D., Boulouis, H.J., Heller, R., Van, J.S., Monteil, H., Chomel, B.B., Sander, A., Dehio, C., Piemont, Y. 1995**: *Bartonella bovis sp. nov*. and *Bartonella capreoli sp. nov.* isolated from European ruminants. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 1-8.

- **Bessas, A., Leulmi, H., Bitam., Zaidi, S., Ait-Oudhia, K., Raoult, D., Parola, P., et al. 2016:** Molecular evidence of vector-borne pathogens in dogs and cats and their ectoparasites in Algiers, Algeria**.** *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases* 45: 23-8. doi:10.1016/j.cimid.2016.01.002.
- **Beugnet, F., Boulouis, H.J., Chabanne, L., Clement, M.L., Davoust, B., Haddad,N., Marotel, M., Vayssier,M. 2006:** Approche clinique des maladies vectorielles des carnivores domestiques. *La dépêche technique,* Supplément technique à la Dépêche Vétérinaire, n°99, p45.
- **Birtles, R.J., Harrison, T.G., Saunders., N.A. and Molyneux, D.H. 1995**: Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpe comb. nov., Bartonella peromysci comb. nov.,* and three new spices, *Bartonella grahamii sp. nov., Bartonella taylorii sp. nov.* and *Bartonella doshiae sp. nov. Int J Syst Bacteriol. 45(1): 1-8.*
- **Bitam, I., Rolain, J., Baziz, B., Parola, P., & Raoult, D. 2008:** *Bartonella* species detected in rodents and Hedghogs from Algeria. 15. 102-103.
- **Bitam, I., Mrc, J., Nicolas, V., Tsai, Parola., Gundi, V.A.K B., …. Raoult, D. 2012:** A multi-gene analysis of diversity of *Bartonella* detected in fleas from Algeria. *Comparative Immunology, Bacteriology and Infectious diseases.* 35(1), 71-76.
- **Bitan, E.C. 2002:** Les bactéries hémotropes: aspects bactériologique, épidémiologique, Clinique chez le chien et pathologie compare chez l'homme. 69-71.
- **Boraker, D., Stinebring, W. and Kunkel, J. 1981**: ELISA: an Enzyme-Antibody Immunoassay for Dectection of *Brucella abortus* Antibodies in Milk: Correlation with the *Brucella* Ring Test and with Shedding of Viable Organisms. *Journal of clinical microbiology.* octobre 1981, Vol. 14. 4. pp. 396-403.
- **Boudilmi, B., Chalabi, N., Mouaziz, A. 1990**: Brucellose animale et humaine dans l'ouest algérien. Quelques résultats bactériologiques et sérologiques. *Séminaire sur les Brucelloses, Ghardaïa.*
- **Boulouis, H.J., Chomel, B. 1999**: Actualités sur les bartonelles. *Bull. Acad. Nat. Méd.*7 : 1399-1412.
- **Boulouis, H.J., Maillard, R., Halos, L., Vayssier-Taussaut, M., Chomel, B. 2005:** Les infections à *Bartonella* chez les mammifères. *Le nouveau praticien vétérinaire*. 298 : 30-34.
- **Boulouiss, H.J., Haddad, N., Mailard, R., Marignac, G., Vayssier-Taussat. 2007**: Les infections à *Bartonella* chez l'homme et l'animal: aspects diagnostiques et thérapeutiques. *Revue Francophone des Laboratoires* N° 391, P. 33-40.
- **Boulouis, H.J., Haddad, N. and Maillard, R. 2014**: Les bartonelloses zoonoses. 45-50. http//doi.org.10.1016/S1773-035X(14)72574-2.

- **Breitschwerdt, E.B., Kordick, D.L., Malarey, D.E., Keene, B., Hadfield, T.L., Wilson, K. 1995**: Endocarditis in a dog due to infection with a novel *Bartonella* subspecies. *J. Clin. Microbiol.* 33: 154-160.
- **Breitschwerdt, E.B., Kordick, D.L. 2000**: *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. *Clin. Microbiol. Rev*. 13**:** 428-437.
- **Breitschwerdt, E.B., Blann, K.R., Strbbins, M.E., Munana, K.R., Davidson, M.G., Jackson, H.A., Willard, M.D. 2004**: Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24 dogs seroreactive to *Bartonella vinsonii* (*berkhoffii*) antigens. *J Am Anim Hosp Assoc*. 40: 92-101.
- **Breitschwerdt, E.B., Maggi, R.G., Simon, B., Nicholson, W.L. 2006**: Isolation of *bartonella Quintana* from a woman and cat following putative bite transmission. J. Clin Microbiol. 45: 270-272.
- **Brenner, D. J., O'Connor, S. P., Winkler, H.H., Steigerwalt, A.G. 1993**: Proposal to unify the genre *Bart*onella and *Rochalimae*, with descriptions of *Bartonella Quintana comb. nov., Bartonella vinsonii comb. nov., Bartonella henselae comb. Nov.,* and *Bartonella elizabethae comb. Nov.,* and to remove the family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. *Int. J.Syst. Bacteriol.* 43: 777-786.
- **Brunt, J., Guptill, L., Kordrick, D.L., Kudrak, S., Lappin, M.R. 2006**: Panel on diagnosis, treatment and prevention of *Bartonella spp.* infections, American Association of Feline P; Academy of Feline Medecine Advisory P. *Feline Med. Surg*. 8: 213-226.
- **Chang, C., Chomel, B.B., Kasten R.W., Heller, R., Kocan, K.M., Ueno H., Yamamoto, K., Bleich, V.C., Pierce, B.M., Gonzaloes, B.J., Swift, P.K., Boyce, W.M., Jang, S.S., Boulouis, H.J., Piémont, Y. 2000**: *Bartonella spp.* isolated from wild and domestic ruminants in North America ; *Emerg. Infect. Dis.* Vol 6 n° 3; p306-11.
- **Chomel, B.B., Kasten, R.W., Floyd-Hawkins, K., Chi, B., Yamamoto, K., Roberts-Wilson, J., Gurfield, A.N., Abbott, R.C., Pedersen, N.C., Koehler, J.E. 1996**: Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *J Clin Microbiol*. 34: 1952–1956.
- **Chomel, B.B., Wey, A.C., Kasten, R.W. 2003**: Isolation of *Bartonella washoensis* from a dog with mitral valve endocadotis. *J. Clin. Microbiol.* 41: 5327-5332.
- **Chomel, B.B., Wey, A.C., Kasten, R.W., Stacy, B.A.,Labelle, P. 2003**: A case of endocarditis associated with *Bartonella henselae* type I injection in a domestic cat. *J. Clin. Microbiol.* 1: 5337-5339.

- **Corbel, M.J. Cungu, A., Swinnen, J.F.M. 2006**: Brucellosis in Humans and Animals. *World Health Organization, 103 p.* Albania's Radical Agrarian Reform. *Econ. Dev. Cult. Change*. 1999, 47: 605‑619.
- **Daly, J.S, Worthington, M.G., Brenner D.J., Moss, C.W., Hollis, D.G., Weyant, R.S. et al., 1993**: *Rochalimae elizabethae sp. nov.* isolated from patient with endocarditis. *J. Clin. Microbiol.* 31 : 872-881.
- **Delcroix, T.N., Barbazange, F.M. 2002** : Infection à *Bartonella* dans un élevage bovin laitier des Yvelines; épidémiologie et conséquences sur la reproduction. p20-3.
- **Diaz A.E. 2013**: Epidemiology of brucelosis in domestic animals caused by *Brucella melitensis*, *Brucella suis* and *Brucella abortus*. *Revue Scientifique et technique de l'OIE.* Vol. 32 : pp. 53-60
- **Direction des services vétérinaire**.**2005**: "Programmes de lutte contre les zoonoses initiés par le ministère de l'agriculture et du développement rural".
- **Dolan, M.J., Wong, M.T., Regnery, R.L., Jorgensen, J.H., Garcia, M., Peters J. et al., 1993**: Syndrome of *Rochalimaea henselae* adenitis suggestion cat-scratch disease. *Ann. Intern. Med.* 118: 331-336.
- **Ebani, V.V., Fratini, F., Bertelloni, F., Domenico,C., Enrico, T. 2012 :** Isolation and identification of mycobacteria from captive reptiles. Research in Veterinary Science 93. 1136–1138.
- **Ellis, B.A., Regnery, R.L., Beati, L., Bacellar, F., Rood, M., Glass, G.G., Marston, E., Ksiazek, T.K., Jones, D., Childs, J.E. 1999**: Rats of genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* spices: an Old Word origin for a New World disease? ; *J. Infect. Dis*. vol. 180 n°1; p.220-4.
- **Erol, E., Jackson, C., Bai, Y., Sells, S., Locke, S., M. 2013**: *Bartonella bovis* isolated from a cow with endocarditis, 10-12. http://doi.org/10.11.77/1040638713477408.
- **Euzbey, J. 1997**: List of bacterial names with standing in nomenclature: a folder avaible on the internet. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 590-2.
- **Foil, L., Andress, E., Freeland, R.L., Roy, A.F., Rutledge, R., Triche, P.C., O'Reilly, K.L. 1998**: Experimental infection of domestic cats with *Bartonella henselae*by inoculation of *Ctenoceohalides felis* feces. *J. Med. Entomel.* 35: 625-628.
- **Fournier, V. 2014** : Gestion d'un foyer de brucellose à *Brucella melitensis* dans un élevage bovin laitier de Haute-Savoie par les services vétérinaires. *VETAGRO SUP Campus Vétérinaire de Lyon*. p 42.
- **Freycon, P. 2015**: Rôle du bouquetin *capra ibex* dans l'épidémiologie de la brucellose à *Brucella melitensis* en Haute Savoie. *Vet agro sup. Commpus veterinaire de Lyon*. p 46.

- **Gagnière J.-P. et al. 2010**: La brucellose animale, *Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises ;* MERIAL (Lyon). p49.
- **Garin-Bastuji, B. 1993**: Brucellose bovine, ovine et caprine : contrôle et prévention. Le point vétérinaire. Vol. 25, 152 : pp. 15-22.
- **Garin-Bastuji, B. 1993**: Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés, le cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. *Le point vétérinaire* .vol 25. 152 : pp. 23-32.
- **Garin-Bastuji, B. 2003**: La brucellose Ovine et caprine. *Le point vétérinaire*.235, pp. 22-26.
- **Garin-Bastuji, B., et al. 2006:** The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. *Small ruminant research.*Vol. 62, pp. 63-70.
- **Garrity, G.M ., Bell, J.A. and Lilburn, T.G. 2004**: Taxonomic outline of the prokaryotes.Bergey's manual of systematic bacteriology. *Springer, New York, Berlin, Heidelberg.*
- **Gillespie, J.J., Wattam, A.R., Cammer, S.A., Gabbard J.L., Shukla, M.P., Dalay, O., Driscoll, T., Hix, D., Mane, S.P., Mao, C. et al. 2011**: PATRIC: The comprehensive bacterial bioinformatics resource with a focus on human pathogenic species. *Infect Immun* 79: 4286–4298.
- **Glaus, T., Hofmann-Lehmann, R., Greene, C ; Glaus, B., Wolfensberger, C., Lutz, H. 1997**: Seroprevalence of *Bartonella henselae* infection and correlation with disease status in cats in Switzerland. *J. Clin. Microbiol.* 35: 2883-2885.
- **Godfroid, J., Al-mariri, A., Walravens, K. and Letesson, J.J. 2003**: Brucellose bovine *In* "Principales Maladies infectieuse et parasitaires du bétail, Europe et région chaude" (P.C. Lefèvre, J.Blancou and R. Chermettre, eds.), Vol. *maladies bactériennes, mycoses, maladie parasitaires*. pp. 867-868. *Edition La voisier, Paris, London, New York.*
- **Godfroid, J., et al. 2013:** Brucellosis in terrestrial wildlife. *Revue scientifique et technique de l'OIE.* 32 : pp. 27-42.
- **Gomo, C. 2015**: Brucellosis at the Wildlife/Livestock/Human Interface, *in: Baddour, M.M. (Éd.), Updates on Brucellosis.* InTech.
- **Guitiérrez, R., Cohen, L., Morick, D., Mumcuoglu, K.Y., Harrus, S. 2014**: Identification of different *Bartonella* species in the Cattle Tail Louse (*Haematopinus quadripertusus*) and in Cattle Blood, 80. 5477-5483. http://doi.org/10.1128/AEM.01409-14.
- **Guptill, L., Slater, L., Wu, C.C., et al 1999**: Immune response of neonatal specific pathogen-free cats to experimental infection with *Bartonella henselae. Vet Immunol Immunopathol* 71: 233-43.

- Guptill, L., Slater, L.N., Wu, C.C., Lin, T.L., Glickman, L.T., Welch, D.F., TOBOLSKI, J., Hongenesch, H. 1998. Evidence of reproductive failure and lack of perinatal transmission of *Bartonella henselae* in experimentally infected cats. *Vet Immunopathol.* 65: 177-189.
- **Gurfield, A. N., Boulouis, H.-J., Chomel, B. B., Kasten, R. W., Heller, R., Bouilli C., Gandoin C., Thibault, T D., Chang, C.-C., Barrat, F., Piemonty, Y. 2001**: Epidemiology of *Bartonella* infection in domestic cats in France. *Veterinary Microbiology*. Vol 80, n°2, p. 185-198.
- **Gwida, M., Al-Dahouk, S., Melzer, F., Rosler, U., Neubauer, H. and Tomaso, H. 2010**: Brucellosis – Regionally Emerging Zoonosic Disease. *Croatian Medical Journal* 51 : 289-295.
- **Haddad N. et al. 2010:** Les zoonoses infectieuses, *Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises.* Mérial (Lyon). p189.
- **Halos, L., Jamal, T., Maillard, R., Girard, B., Guillot, J., Chomel, B., Vayssier-Taussat, M., Boulouis, H.J. 2004**: Role of *Hippoboscidae* flies as potential vectors of *Bartonella spp*. infecting wild and domestic ruminants. *Appl Environ Microbiol*. 70. 6302 – 6305.
- **Hansman, Y., De Martino, S.,Piémont Y., Meyer, N., Mariet, P., Heller, R., Christmann, D., Jaulhac, B. 2005**: Diagnosis of cat scratch disease with detection of *Bartonella henselae* by PCR: a study of patients with lymph node enlargement. *J. Clin. Microbiol*. 43/8: 3800-3806.
- **Harms A, Dehio C 2012**: Intruders below the radar: Molecular pathogenesis of *Bartonella* spp. *Clin Microbiol Rev.* 25: 42–78
- **Heller, R., Riegel, P., Hansmann, Y., Delacour, G., Bermond, D., Dehio, C., et al. 1998.**
- **Higgins, J.A., Radulovic, S., Jaworski, D.C., Azad, L.F. 1996:** Acquisition of the cat scratch disease agent *Bartonella henselae* by cat fleas (Siphonaptera: *Pulicidae*). *J. Med. Entomol.* 33: 490-495.
- **Houpikian, P. & Marseille, D.,1993**: Infection à *Bartonella.* Int. J. Syst. Bacteriol. 43: 777-786.
- **Jamal, T., Maillard, R., Girard, B., Guillot, J., Chomel, B.B., Vayssier-taussat, M., Boulouis, H.J. 2004**: Role of *Hippoboscidae* flies as potential vectors of *Bartonella spp*. infcting wild and domestic ruminants, 70(10), 6302-6305.
- **Jameson, P., Greene, C., Regnery, R., Dryden, M., Marks, A., Brown, J., Cooper, J., Glaus, B., Greene, R. 1995**: Prevamece of *Bartonella henselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. *J. Infect. Dis.* Vol. 172 n°4; p. 1145-9.
- **Karem, K.L., Dubois, K., McGills, S., Regnery, R.L. 1999**: Characterization of *Bartonella henselae* specific immunity in BALB/c mice. *Immunology*. 71: 352-8.

- **Kerkhoff, F.T., Bergmans, A.M., Van Der Zee, A., Rothova, A., 1999**: Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis. *J. Clin. Microbiol.* 37: 4034-4038.
- **Kernif, T**., **Leulmi, H., Socolovschi, C., Brenger, J, M., Lepidi, H., Bitam, L., Parola, P. 2014 :** Aquisition and excretion of *Bartonella Quintana* by the cat flea, *Ctenocephalides felis*. *Molecular Ecology*. 23 (5), 1204-1212.
- **Kordrick, D.L., Swaminathan, B., Greene C.E., Wilson, K.H., Whitney, A.M., O'Connor, S. et al., 1996**: *Bartonella vinsonii subsp.berkhoffiii subsp.nov.* ; isolated from dogs; *Bartonella vinsonii subsp. Vinsonii ;* and emended description of *bartonella vinsonii*. *In. J. Bacteriol.* 35: 1813-1818.
- **Kosoy, M.Y., Regnery, R.L., Tzianados, T., *et al.* 1998**: Isolation of *Bartonella spp*. from embryos and neonates of naturally infected rodents. *J. Wildl. Dis*. 34: 305-9.
- **Kunkel, D. 2008:** *Brucella abortus*. Inc. Science Stock Photography, Dennis Kunkel Microscopy, http://www.deniskunkel.com
- **Kutlu, M., Ergonul, O., Sayin-kutlu S., Guven, T., Ustun, C., Alp-cavus S. and al. 2014:** Risk factors for occupational brucellosis among veterinary personnel in Turkey. *Prev. Vet. Med*.117: 52–58.
- **La Scola, B. and D. Raoult. 1999**: Culture of *Bartonella quintana* and *Bartonella henselae* from human samples: a 5-year experience (1993 to 1998). *J.Clin.Microbiol*. 37:1899-1905.
- **Larpent J.P., 2000 :** Introduction à la nouvelle classification bactérienne, les principaux groupes bactériens. Paris : *TEC et DOC.* p280.
- **Laudat, P., et al. 1987:** Sérologie de la brucellose : évaluation comparative des réactions d'agglutination, de fixation du complément, d'immuno-fluorescence indirecte et de la contre-immuno-électrophorèse. *Médecine et maladies infectieuses.* Vol. 2. pp. 58-61.
- **Lavigne, J.P. and O'Callaghan, D. 2011**: *Brucella. In* "Bactériologie Médicale" (François Denis, Marie-Cécile Poly, Christian Martin, Edouard Bingen and R. Quentin, eds.), pp. 372-380. Elsevier Masson.
- **Leulmi, H**., **Aoudia, A., Bitam, I., Bessas, A., Benakhla, A., Raoult, D., & Parola, P. 2016:** Effects of cow age and pregnancy on *Bartonella bovis* infection in a herd of Dairy Cattle. 44 (1). 42-46.
- **Llosa, M., Roy, C., Dehio, C. 2009**: Bacterial type IV secretion systems in human disease. *Mol Microbiol* 73: 141–151.
- **Lounes, N. 2009:** Historique du dépistage et prophylaxie de la brucellose bovine en Algérie. Recueil des Ateliers d'épidémiologie animale, 2009, Vol 1, p 07.

- **Lounes, N. 2016**: Etude des propriétés biologiques des *Brucella* responsables de la maladie et leur distribution en Algérie.12-15.
- **MADR, Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural. Algérie. 2014.**
- **Maguina, C., Guerra, H., Ventosilla, P. 2009:** Bartonellosis. *Clin Dermatol*. 27: 271–280.
- **Maillard, R., Boulouis, H.J., Marignac, G., Haddad, N., Chomel, B. 2008**: Animal reservoirs and primary hosts of *Bartonella*. *Bull. Acad. Vét. France-Tome 161 – N°3* *www.academie-veterinaire-defrance.org/*.
- **Maillard, R., Halos,L., Boulouis, H.J. 2005**: Les bartonelloses chez le chat, le chien et les bovins, Le point vétérinaire. 36 (254), 22-27.
- **Maillard, R., Riegel, P., Barrat, F., Bouillin, C., Thibault, D., Gandoin, C., Vayssier-taussat, M. 2004**: *Bartonella chomelii sp. Nov.*, isolated from domestic cattle (*Bos taurus*) printed in Great Britain, 215-220. http://doi.org/10.1099/ijs.0.02770-0.
- **Mainar-Jaime, R.-C., et al. 2005**: Specificity dependence between serological tests for diagnosing bovine brucellosis in *Brucella*-free farms showing false positive serological reactions due to *Yersinia enterolitica O:9*. *Canadian Veterinary Journal.* Vol. 46. pp. 913-916.
- **Massar, C., Gerbier, G. 1994:** Acroissement des réactions faussement positives dans la prophylaxie de la brucellose bovine : les sérologiess atypiques lors des compagnes 1991-1992. P 2 : 3-4
- **Maurin, M. 2005**: La brucellose à l'aube du 21e siècle. *Médecine et Maladies infectieuses* 35: 6-16.
- **Maurin, M. 2007**: *Brucella. In* "Prècis de Bactériologie Clinique" (J. Freney, F. Renaud, R. Leclercq and P. Riegel, eds.), pp. 1377-1385. Edition ESKA.
- **Megid, J., Mathias, L.A. and Robles, C.A. 2010**: Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and humans. *Open Veterinary Science Journal*. 4: 119-126.
- **Mexas, A.M., Hancock, S.I., Breitshwerdt, E.B. 2002**: *Bartonella henselae* and *Bartonella elizabethae* as potential canine pathoges. *J. Clin. Microbiol.* 40: 4670-4674.
- **Minas, A. 2006:** Control and eradication of brucellosis in small ruminants. Small ruminants research. Vol. 62 : pp. 101-107.
- **Minnick, M.F., Anderson, B.E. 2000**: *Bartonella* interactions with host cells. *Subcell. Biochem.* 33: 97-123.
- **Mogollon-passapera, E., Jr, L.o., Giodano, A. and Cassone, M. 2009:** *Bartonella*: emerging pathogen or emerging awareness.
- **Nielsen, K. 2002:** Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary microbiology*. Vol. 90. pp. 447-459.

- **O'Reilly, K.L., Bauer, R.W., Freeland, R.L., Foil, L.D., Hughes, K.J., Rohde, K.R., Roy, A.F., Stout, R.W., TRiche, P.C. 1999**: Acute clinical disease in cats following infection with a pathogenic strain of *Bartonella henselae* (LSU16). *Infect. Immun*. 67: 3066-3072.
- **OMS, Organisation Mondiale de la Santé. 2015**: Estimation of the global burden of foodborne diseases. Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015.
- **Osterman, B. and Moriyon, I. 2006**: Internationnal Committee on Systematics of Prokartotes; Subcommittee on the taxonomy of *Brucella* : *Minutes of meeting*, 17 september 2003, Pamplona, Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56: 1173-1175. pp. 22-26.
- **Parola, P. et Raoult,D. 2001 :** Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis*. 33(5):749.
- **Perry J., Staley J.T., Lory S., 2002:** *Microbial life*. Sunderland: Sinauer Associates: p811.
- **Phillip C.B. 1957**: Family I. Rickettsiaceae Pinkerton, 1936, In Breed R.S; Murray E.G.D; and smith N.R. (ed.), *Bergey's Mannual of determinative bacteriology, 7th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore*. p 934-947.
- **Piémont, Y. et Bermond, D. 2001**: Maladies provoquées par *Bartonella spp. Ann . Biol. Clin.* 59 (5): 593-603.
- **Ristic, M .et Kreier, J.P. 1984:** Family II. Bartonellacceae Gieszczykicz 1939 In Krieg N.R. and Holt J.G. (ed.), Bergey's *manual of systematic bacteriology, Vol 1. Williams & Wilkins Co., Baltimore.* 717-716.
- **Roop, R.M., Gaines, J.M., Anderson, E.S., Caswell, C.C., Martin, D.W. 2009**: Survival of the fittest: How *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Med Microbiol Immunol.* 198: 221–238.
- **Roux, J. 1979**: Epidémiologie et prévention de la brucellose. *Bulletin de l'Organisation mondial de la Santé*, 57 (2) : 179-194.
- **Roux, J. 1984**: *Brucella. In* "Bactériologie Médicale" (L. V. Le Minor, M., ed.), pp. 4346454. *FlammarionMédecine-Sciences*.
- **Roux, V., Eykyn, S., Wyllie, S., Raoult, D. 2000**: *Bartonella vinsonii subsp.berkhoffiii* an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. *J. Clin. Microbiol.* 38: 1698-1700.
- **Saunders, G.K & Monroe, W.E. 2006**: Systemic granulomatous disease and sialometaplasia in a dog with *Bartonella* infection. *Vet Pathol*. 43: 391-392.
- **Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare**. **2001**: Brucellosis in Sheep and Goats (*Brucella melitensis*).

- **Seleem, M. N., Boyle, S.M. and Srianganathan, N. 2010**: Brucellosis: A re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology* 140: 329-398.
- **Sergent, E., Gillot, V., Lemaire, G.1908**: Études sur la fièvre méditerranéenne chez les chèvres algéroises. Annales de l'Institut Pasteur In "Recherches expérimentales sur la pathologie algérienne (microbiologie-parasitologie), 1902-1909", (ed Sergent, E.). 235-265.
- **Sibelle C.M.A. 2006**: Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangaï (Mongolie). THESE : 06 – TOU 3 – 4124.
- **Smith M.C., Sherman D.M. 2009**: Reproductive System, in: Goat Medicine. Wiley-Blackwell, p. 571-645.
- **Solera J. 2010**: Update on brucellosis: therapeutic challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents*.36 Suppl 1, S18-20.
- **Stauffer, C.O.L. 2002**: *Brucella spp.* coloration de Gram *In* "Oregon State Public Health Laboratory". CDC, http://Phil.cdc.gov/phil/details.asp.
- **Szyfres B., Acha P.N. 2001**: Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. *3rd edition. Vol. I Bacterioses and Mycoses*, 1 edition.*Pan Amer Health Org, Washington, D.C*, 401 p.
- **Tood. 2014**: Colonies de *B.abortus* sur gélose chocolat CDC, *http://phil.cdc.gov/phil/details.asp*.
- T**raxler, R.M., Lehman, M.W., Bosserman, E.A., Guerra, M.A., Smith, T.L.A. 2013**: Literature Review of Laboratory-Acquired Brucellosis. *J. Clin. Microbiol*. 51: 3055‑3062.
- **Tsai, Y; Chomel, B.B; Chang, C; Kass, P.A. & Chuang, S. 2011**: Comparative Immunology, Microbiology and Inectious Diseases *Bartonella* and *Babesia* infections in cattle and their ticks in Taiwan "*Comparative Immunology, Microbiology and Inectious Diseases"* 34(2), 179-187. http://doi.org/10.1016/j.cimid.2010.11.003.
- **Vanzin, V.R. et al. 2001**: Comparison of an indirect ELISA with the *Brucella* milk ring test for detection of antibodies to *Brucella abortus* in bulk milk samples. *Veterinary Microbiology*.vol. 82. pp. 55-60.
- **Von Bargen, K., Gorvel, J.P., Salcedo, S.P. 2012**: Internal affairs: Investigating the *Brucella* intracellular lifestyle. *FEMS Microbiol Rev.* 36: 533–562
- **Welch, D.F., Carrol, K.C., Hofmeister, E.K., Persing, D.H., Robison, D.A; Steigerwalt, A.G. et al. 1999**: Isolation of a new subspecies, *Bartonella vinsonii subsp. arupensis*, from a cattle rancher: identity with isolates in conjuction with *Borellia burgdorferi* and *Babesia microti* among naturally infected mice. *J. Clin. Microbil.* 37: 2598-2601.

ANNEXES

— l'isolement, le recensement et l'identification de tous les animaux sensibles au niveau de l'exploitation.

— l'examen sérologique de tous les ovins et caprins âgés de plus de six (6) mois.

— la séquestration et le marquage des animaux réagissant positivement à la maladie par une perforation de l'oreille gauche à l'aide d'une pince emporte pièce (10 mm de diamètre) dans un délai de huit (8) jours suivant la notification officielle de la maladie.

— la mise en interdit des locaux, herbages et pâturages affectés à ces animaux.

Art. 7. — La sortie des animaux de l'espèce caprine, ovine et bovine est interdite sauf pour l'abattage.

Dans ce cas, les animaux doivent être préalablement marqués et accompagnés d'un certificat d'abattage délivré par le vétérinaire dûment mandaté et dirigés directement sur un abattoir muni d'infrastructures permettant les abattages sanitaires.

Art. 8. — Le lait produit dans l'exploitation ne peut être utilisé ou vendu, pour consommation en nature, qu'après ébullition.

Il ne peut être cédé que pour la fabrication de fromages subissant une maturation de plus de trois (3) mois ou pour la fabrication, après pasteurisation, d'autres fromages ou tout autre produit dérivé.

Art. 9. — L'ordre d'abattage des animaux atteints de brucellose peut être donné par le ministre chargé de l'agriculture ou par le wali dans le cadre d'un programme officiel et ce, sur proposition de l'autorité vétérinaire nationale.

Art. 10. — Au cours de l'abattage, les personnes chargées de la saignée et de la préparation des viandes des animaux, provenant de l'exploitation infectée, doivent porter, pendant toute la durée des opérations d'abattage, un bonnet, une blouse, un tablier et des gants en matière imperméable et lavable.

Art. 11. — Une désinfection terminale de l'exploitation, après élimination des animaux marqués et celle des véhicules servant au transport des animaux de l'exploitation est obligatoire et à la charge du propriétaire. Des certificats de désinfection sont délivrés par les services vétérinaires officiels.

Art. 12. — Le wali, sur proposition de l'inspecteur vétérinaire de wilaya, lève la déclaration d'infection décrétée et ce, sous réserve que :

— tous les animaux marqués aient été éliminés,

— le contrôle sérologique, effectué sur le reste du cheptel à intervalle de deux (2) mois au moins et six (6) mois au plus, après élimination des animaux atteints de brucellose s'est avéré négatif à l'épreuve à l'antigène tamponné.

— une désinfectation terminale ait été réalisé.

Art. 13. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 3 Chaâbane 1416 correspondant au 26 décembre 1995.

Le ministre de l'intérieur, des collectivités locales, de l'environnement et de la réforme administrative

Mostéfa BENMANSOUR.

Le ministre des finances

Ahmed BENBITOUR.

Le ministre de la santé et de la population

Yahia GUIDOUM.

Le ministre de l'agriculture

Noureddine BAHBOUH

★

Arrêté interministériel du 3 Chaâbane 1416 correspondant au 26 décembre 1995 fixant les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la brucellose bovine.

Le ministre de l'intérieur, des collectivités locales, de l'environnement et de la réforme administrative ,

Le ministre des finances,

Le ministre de la santé et de la population et

Le ministre de l'agriculture,

Vu la loi n° 88-08 du 26 janvier 1988 relative à la médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale ;

Vu la loi n° 90-08 du 7 avril 1990 relative à la commune ;

Vu la loi n° 90-09 du 7 avril 1990 relative à la wilaya ;

Vu le décret présidentiel n° 94-93 du 4 Dhou El Kaada 1414 correspondant au 15 avril 1994, modifié et complété, portant nomination des membres du Gouvernement;

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

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

Vu l'arrêté interministériel du 1er septembre 1984 portant institution d'un comité national et de comités de wilaya de lutte contre les zooneses ;

Arrêtent :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 3 du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer les mesures de prévention et de lutte spécifiques à la brucellose bovine.

Art. 2. — Tout animal de l'espèce bovine qui avorte ou présente des symptômes prémonitoires d'un avortement ou consécutifs à un avortement est considéré comme suspect de brucellose.

Est considéré comme avortement chez les femelles bovines.

— l'expulsion du foetus,

— l'expulsion du veau :

* soit mort né,

* soit succombant dans les 48 h.

Art. 3. — Toute personne ayant constaté un avortement ou les symptomes décrits à l'article 2 ci-dessus, est tenue d'aviser immédiatement le vétérinaire le plus proche ou à défaut le président de l'instance communale territorialement compétente, qui requiert le vétérinaire le plus proche.

Art. 4. — Le vétérinaire avisé doit se déplacer sur les lieux pour constater les faits. La femelle suspecte doit faire l'objet d'un isolement immédiat.

Une déclaration doit être faite au président de l'instance communale territorialement compétente.

Art. 5. — Si, au cours de l'examen de la femelle suspecte, le vétérinaire constate un avortement ou les traces d'un avortement éventuel, il est dans ce cas tenu :

— d'effectuer les prélèvements nécessaires au diagnostic.

On entend par prélèvements nécessaires :

* les fragments de placenta portant sur 2 ou 3 cotyledons lésés ou à défaut des sécrétions utérines ou l'avorton total ou son estomac ligature ou sa rate ou son poumon,

* le sang provenant de la femelle suspecte d'avortement,

— de rédiger un rapport sanitaire concernant la femelle avortée et l'exploitation,

— d'expédier les prélèvements dans les meilleurs délais accompagnés du rapport sanitaire et d'une fiche d'identification au laboratoire de diagnostic, agréé par le ministère de l'agriculture.

Art. 6. — Le laboratoire de diagnostic doit procéder rapidement à l'analyse des prélèvements et communiquer les résultats au vétérinaire expéditeur et à l'inspecteur vétérinaire de wilaya.

Sont retenues comme épreuves de diagnostic :

* l'épreuve à l'antigène tamponné,

* la réaction de fixation du complément,

* le ring test ou test de l'anneau (lait),

* toute autre épreuve autorisée par le ministère de l'agriculture.

Art. 7. — Sont reconnus indemnes, les animaux présentant à l'épreuve de fixation du complément un titre inférieur à 20 UI, sensibilisatrices par millilitre et provenant d'un cheptel indemne.

Art. 8. — Un cheptel est reconnu indemne si aucune manifestation clinique de brucellose n'a été notée depuis douze (12) mois au moins avec deux épreuves sérologiques négatives à l'antigène tamponné et pratiquées à un intervalle de six (6) mois sur tous les animaux de l'espèce bovine âgés de plus de douze (12) mois ou ayant un titre inférieur à vingt (20) unités sensibilisatrices à la réaction de fixation du complément.

Art. 9. — Sont atteints de brucellose clinique :

* les animaux ayant avorté avec une sérologie positive ou à partir desquels sont isolées les brucelles.

* les animaux présentant une orchite avec examen sérologique positif.

Art. 10. — Sont atteints de brucellose latente, les animaux qui présentent à l'examen sérologique un titre supérieur ou égal à vingt (20) unités sensibilisatrices par millilitre à la réaction de fixation du complément.

Art. 11. — Dès que le foyer de brucellose est confirmé, l'inspecteur vétérinaire de wilaya en informe la direction chargée de la santé publique au niveau de la wilaya qui prend les mesures sanitaires nécessaires chez l'homme au niveau de la zone infectée.

Art. 12. — Le wali, sur proposition de l'inspecteur vétérinaire de wilaya déclare l'infection de l'exploitation.

Sont alors visés à l'égard des animaux de l'exploitation les mesures suivantes :

a) Visite et recensement des animaux des espèces bovines, ovines et caprines et identification des bovins, ovins et caprins par le vétérinaire dûment mandaté par l'inspecteur vétérinaire de wilaya.

b) Chaque bovin de plus de douze (12) mois d'âge doit subir un examen clinique et un prélèvement de sang pour le contrôle sérologique.

c) Isolement :

* des ou de la femelle avortée (s),

* des bovins reconnus atteints de brucellose clinique ou latente,

* des parturientes (dès les signes prémonitoires de la mise-bas et jusqu'à disparition de tout écoulement vulvaire).

d) Marquage obligatoire par le vétérinaire dûment mandaté :

* des ou de la femelle avortée (s) dans les trois (3) jours qui suivent la communication du diagnostic par les services vétérinaires officiels sur les lieux mêmes où l'infection a été constatée,

* des bovins reconnus atteints de brucellose clinique ou latente (à la diligence du propriétaire ou du détenteur des animaux) dans les quinze (15) jours qui suivent la notification officielle de la maladie.

Ce marquage sera obligatoirement une perforation en 00 (20 mm de diamètre) de l'oreille gauche à l'aide de la pince"emporte pièce".

Art. 13. — L'exploitation concernée par la déclaration d'infection est soumise à séquestration. La sortie des bovins, ovins et caprins est interdite sauf pour abattage. Dans ce cas, les animaux doivent être préalablement marqués.

L'accès de ces animaux à un pâturage commun et l'abreuvement aux points d'eau publics, rivières ou mares sont interdits.

Art. 14. — L'accès aux locaux d'isolement est interdit à toute personne autre que le propriétaire, les employés chargés des soins aux animaux et les agents des services vétérinaires dûment mandatés.

Art. 15. — L'ordre d'abattage des animaux atteints de brucellose peut être donné par le ministre chargé de l'agriculture ou par le wali territorialement compétent dans le cadre d'un programme officiel et sur proposition de l'autorité vétérinaire nationale.

Il indique, en outre, les conditions d'abattage des animaux dont les modalités sont décrites à l'article 16 ci-dessous.

Art. 16. — Les animaux de l'exploitation infectés destinés à l'abattage sont obligatoirement accompagnés d'un certificat d'abattage individuel délivré par le vétérinaire dûment mandaté.

Ils seront transportés directement vers un abattoir agrée ou clos d'équarissage et ne doivent pas entrer en contact avec des animaux destinés à l'élevage.

Les personnes chargées de la saignée et de la préparation des viandes des animaux provenant de l'exploitation infectée, doivent porter pendant toute la durée des opérations d'abattage un bonnet, une blouse, un tablier et des gants en matière imperméable et lavable.

Art. 17. — Une désinfection terminale de l'exploitation, après élimination des animaux marqués, et celles des véhicules servant au transport des animaux de l'exploitation est obligatoire et est à la charge du propriétaire.

Des certificats de désinfection sont, dans ce cas, délivrés par les services vétérinaires officiels.

Art. 18. — Sur proposition de l'inspecteur vétérinaire de la wilaya, le wali lève la déclaration d'infection et ce, six (6) semaines au moins après la constatation du dernier cas de brucellose, sous réserve que :

— tous les bovins marqués aient été éliminés,

— une désinfection terminale ait été réalisée.

Art. 19. — Les mesures applicables après la levée de la déclaration d'infection sont :

— contrôle sérologique des animaux concernés dans un délai de deux (2) mois après abattage du dernier animal marqué et désinfection terminale,

— l'introduction de bovins dans le cheptel n'est possible qu'après un contrôle favorable des animaux concernés, et au minimum douze (12) mois après la levée de l'arrêté d'infection,

— l'isolement des parturiantes est obligatoire pendant les douze (12) mois suivant la levée de l'arrêté d'infection,

— le lait de vache ne peut être utilisé et vendu à l'état cru sauf à destination d'un atelier de pasteurisation ou après que l'exploitation soit reconnue indemne.

En cas d'usage sur place, il ne doit être utilisé qu'après ébullition.

Art. 20. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 3 Chaâbane 1416 correspondant au 26 décembre 1995.

Le ministre de l'intérieur, des collectivités locales, de l'environnement et de la réforme administrative

Mostéfa BENMANSOUR.

Le ministre des finances

Ahmed BENBITOUR.

Le ministre de la santé et de la population

Yahia GUIDOUM.

Le ministre de l'agriculture

Noureddine BAHBOUH

★

Arrêté interministériel du 8 Chaâbane 1416 correspondant au 30 décembre 1995 fixant les modalités d'organisation de stages de formation spécialisée au profit des travailleurs du secteur des forêts.

Le Chef du Gouvernement et,

Le ministre de l'agriculture,

Vu le décret n° 71-256 du 19 octobre 1971 portant création d'un institut de technologie forestière (I.T.E.F) ;

Vu le décret n° 83-702 du 26 novembre 1983 portant création d'un centre de formation d'agents techniques spécialisés des forêts à Médéa ;

Résumé

Les bactéries du genre *Bartonella* appartiennent au groupe alpha des *Proteobacteria* (sous-groupe a2) et maintenant à la famille des *Rhizobiaceae*. Les espèces bactériennes, phylogéniquement les plus proches, sont les *Brucella*. Ces deux genres bactériens sont considérés comme majeurs en médecine vétérinaire, d'une part en tant que germes pathogènes reconnus pour les bovins et d'autre part parce que les bovins sont considérés comme des réservoirs ou comme des sentinelles de ces agents zoonotiques. De plus, il semblerait que *Bartonella spp.* et *Brucella spp.* présentent des stratégies d'attaque remarquablement proches. Ce qui nous a poussés à émettre l'hypothèse d'une éventuelle association de l'infection par ces deux bactéries.

Afin de confirmer ou d'infirmer notre hypothèse, nous avons réalisé une enquête séroépidémiologique dans la région d'Alger.

Un total de 40 sérums contrôlés séropositifs à la brucellose ont été analysés pour la recherche d'anticorps anti *Bartonella bovis*, par la technique d'immunofluorescence indirecte et les facteurs de risques susceptibles d'influencer cette coïnfection ont aussi été étudiés.

L'analyse des résultats sérologiques a montré que le pourcentage de la coïnfection par les deux pathogènes était de 57.5 % (au titre de 1/50) et que l'étude des facteurs de risques n'était pas significative.

Mots clés : *Bartonella bovis*, *Brucella spp.*, IFI, séroprévalence, coïnfection, facteurs de risques, bovins, Alger.

Abstract

Bacteria of the genus *Bartonella* belongs to the alpha group of *Proteobacteria* (subgroup a2) and now to the family *Rhizobiaceae*. The closest bacterial species phylogenically, to this genus is the *Brucella*. Both bacterial genera are important in veterinary medicine, on the one hand as pathogenic bacteria recognized for cattle, and on the other hand, because cattle are also known to be reservoirs or sentinels for these zoonotic agents. In addition, it would appear that *Bartonella spp.* and *Brucella spp.* have remarkably close attack strategies. That what made us hypothesize that the two bacteria might be associated.

In order to confirm or invalidate our hypothesis, we carried out a seroepidemiological investigation in Algiers.

A total of 40 samples (*Brucella* +) were analyzed for the anti-*Bartonella bovis* antibodies using the indirect immunofluorescence technique, and the risk factors likely to influence this co-infection were also studied.

Analysis of the serological results showed that the percentage of coinfection by the two pathogens was 57.5 % (1/50), and that the seroprevalence obtained was not associated with age, race and sex.

Key words: *Bartonella bovis*, *Brucella spp.*, IFI, seroprevalence, coinfection, risk factors, cattle, Algiers.

ملخص

البكتيريا من النوع برتونيلا تنتمي إلى المجموعة ألفا من البروتيوباكتيريا (المجموعة الفرعية 2) و إلى عائلة الريزوبياسي. الأنواع البكتيرية الأقرب لهذه المجموعة هي البروسيلا. و لكلا النوعين من هذه البكتيريا اهمية كبيرة في الطب البيطري, من ناحية انها البكتيريا المسببة للأمراض المعترف بها للماشية ومن ناحية أخرى لأن الماشية تعتبر خزانات لهذه البكتريا المتسببة في امراض حيوانية المنشئ. وبالإضافة إلى ذلك فإنه يبدو أن البرتونيلا والبروسيلا لديها استراتيجيات هجوم متماثلة بشكل ملحوظ. وهذا ما دفعنا إلى افتراض أن هاتين البكتيريا قد تترافق مع العدوى.

من أجل تأكيد أو إبطال فرضيتنا، أجرينا تحقيقا في الأمراض الوبائية في منطقة الجزائر العاصمة.

تم اختبار مجموعة 40 مصل (اختبروا ايجابيا مسبقا لداء البروسيلا) للأجسام المضادة (ضد بارتونيلا بوفيس) بواسطة تقنية المناعة الغير المباشرة, وعوامل الخطر التي يمكن أن تؤثر على هذا العدوى تمت أيضا دراستها.

أظهر تحليل النتائج المصلية أن نسبة الإصابة المشتركة كانت 57,5 ٪ . وأن الانتشار المصلي الذي تم الحصول عليه لم يكن مرتبطا بالعمر والعرق والجنس.