REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAI

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biotechnologie et Microbiologie Appliquée

Par :

KHALFI Wassila

TIS Fathia

Thème :

Enquête sérologique sur la brucellose ovine au niveau de la Wilaya de Médéa

Soutenue publiquement le : 17 /09 /2017., Devant le jury composé de :

RAHAL Mohamed	MAA	Univ-Médea	Président
HOUCIENIE Amina	MAB	Univ-Médea	Examinatrice
KHAMES Mammar	MAA	Univ-Médea	Encadreur

Année universitaire 2016/2017

Remerciements

Tout d'abord, je remercie mon Dieu le Tout Puissant qui m'a donné

La force et le courage à réaliser ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement mon promoteur le Dr KHAMES.M, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa contribution générale à l'élaboration de ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux au Doyen de la faculté de biologie Le professeur Oumona Mustapha qui était comme le bon père et le bon maitre pour nous.

Mes sincères remerciements vont à tous mes professeurs de biologie qui ont Essayé toujours à donner le meilleur pour nous.

Je tiens à remercier les ingénieures de laboratoire de la faculté et le Laboratoire Zitouni pour leurs collaborations.

Mes sincères remerciements aux travailleurs de l'abattoir de Médéa Et aux vétérinaires pour leurs gentillesses, leurs aides et leurs respects.

Je tiens enfin à remercier tous ceux qui ont contribué à la réalisation De ce travail de près ou loin.

DEDICACE

Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chères :

A ma raison d'être, ma raison de vivre, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour.

**** Ma chère mère ****

A mon signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont il a fait preuve à mon égard.

**** Mon cher père ****

A la témoignage de la fraternité, de l'encouragement, de l'amour et du sacrifice avec mes souhaits de bonheur de santé et de sucées.

Mes chères sœurs (Hassiba, Sabah, Nawel, Loubna, Marwa)

Mon cher frère Brahim

A mes cousins et cousines, spécifiquement mon cousin ***Hassan*** *pour leur soutien et leur encouragement, et à tous les membres de ma famille, avec mes souhaits de bonheur et de réussite.*

A mon signe de l'amitié, de la sincérité, de la fidélité et de l'amour qui Nous a Liées et des bons moments passés ensembles, je vous Souhaite un avenir Radieux et plein de bonnes promesses.

AMINA

Mes chers amis (Hadjer, Nawel, Khadidja, Ratiba, Naima, Naima, Siham, Zahra, fethia).

A toute personne Ayant Consacré un jour, un moment de sa vie pour m'aider, ou simplement me faire Un sourire……

DEDCACE

Avec un énorme plaisir, un cœur ouverte et une

Immense joie, je dédie ce modeste travail à mes très chère, respectueux et magnifique ♥ parents ♥ qui soutenu tout au longue de ma vie.

A l'esprit de mon chère♥ frère Abdel kani♥ rahimaho allah, qui sera toujours resté dans mon cœur pour toujours.

à ma très chères frères ♥Zaki, Islam, Abdennour ♥à mes chères sures♥ Hala, Narimane, lyna ♥ .

A ma grand-mère pour sa douceur et sa gentillesse.

A ma seule tante fatiha et mon oncle Amer pour toute l'affection qu'ils m'ont donnée et pour leurs précieux encouragements.

A mes amies Nassima, massouda kadra , et ma binôme wassila.

A tout personne qui m'ont encouragé ou aidées à longue de mes étude

fathia

Sommaire

Introduction générale **……**1

Partie bibliographique

I. Généralités

I.1.Historique ……...…….2

I.2.Historique de la brucellose en Algérie ……..…3

I.3.Définition ……..……3

I .4.Synonymie …….……..……4

I.5.Importance ……4

I.5.1.Impact sur la production animale…….……4

I.5.2.Impact sur la santé publique ……..5

II : Agent pathogène

II.1. Le genre *Brucella*……..…….6

II.2.Principales caractéristiques microbiologique des *Brucella.*…….....*7*

II.3. Pouvoir antigénique et immunogène..... …..8

II.4.Caractéristiques microbiologique de *Brucella melitensis.*……..*8*

III : Epidémiologie

III.1.Epidémiologie descriptive : (c'est-à-dire la distribution de la brucellose

ovine à l'échelle mondiale et en Algérie)……...……10

III.2.Epidémiologie analytique : (donner les sources de contagion, le mode detransmission et les voies de pénétration)……..……..10

III.3.Epidémiologie synthétique.....12

IV : symptômes et lésions

IV.1.Symptômes : (les atteints génitales chez la femelle et le male)……..…… …….13

IV.2.Lésions …….13

V : Pathogénicité……..14

VI : Diagnostic

VI.1.Diagnostic clinique.....15

VI.2.Diagnostic expérimental : (le prélèvement, l'examen direct et l'examen indirect) …..15

VII : traitement et prophylaxie

VII.1.Traitement ……...….22

VII.2.Prophylaxie……..……22

VII.2.1.Prophylaxie sanitaire ……22

VII.2.2.Prophylaxie médicale……....23

Partie expérimentale

I. Objectifs……..……25

II. Zone et période d'étude ……..25

III. Matériel et méthodes ……25

III.1. Choix d'abattoir ……..26

III.2. Choix d'élevages …….26

III.3. Matériels……26

III.3.1. Matériel de prélèvement et collecte de sérums ……..……26

III.3.2 Matériels pour les tests sérologiques……27

III.4. Méthodes....……..……27

III.4.1. Echantillonnages ……....27

III.4.2. Prélèvements ……28

III.4.3. Collecte de sérums ……28

III.4.4. Epreuve à l'antigène tamponné…….28

IV.Résultats et discussion ……32

IV.1. Résultats……..32

IV.1.1 Test de chi deux……33

IV.1.2 Etude statistique……39

IV.2. Discussion……..40

IV.2.1 Echantillonnage et prélèvement……41

IV.2.2 La collection de sérum……...41

IV.2.3 Le teste de diagnostique utilisé……41

Conclusion……...41

Recommandation.

Références bibliographiques.

Annexes.

Résumé :

Une enquête sérologique a été menée dans les abattoirs et les élevages ovins dans la wilaya de Médéa, afin d'évaluer la prévalence de la brucellose ovine. Un échantillon ovin de tout âge a été examiné par le rose bangal. La prévalence cheptel de l'infection a été de 2% au rose bangal test, les taux de prévalences par sexe étaient de 1,3 % chez les males et 0% chez les femelles. Les animaux de moyen âge (2-5 ans) présentent les taux de prévalence les plus élevés, dont elle était 1,4 %, et chez les jeunes animaux la prévalence était de 0,8 %, tandis que elle était 0% chez les animaux de l'âge plus de 5ans. Notre étude suggère l'abattage des animaux infectés et faire un sérodiagnostic sur le reste de cheptels ainsi qu'un système de vaccination accompagné par une meilleure surveillance pour éviter la contamination entre les différentes espèces animales.

Mots clés : enquête, brucellose ovine, prévalence, sérodiagnostic, vaccination, rose

Bangal, cheptels.

Summary

A serological survey was conducted in the slaughterhouse and sheep flocks in the wilaya of Médea to assess the prevalence of ovine brucellosis. An ovine population of any age was examined by the rose Bengal test. The prevalence of the infection was 2% at the rose bengal test, the prevalence rates by sex were 1.3 % in males and 0% in females. Middle-aged animals (2- 5 years) had the highest prevalence rates, recording a positivity rate of 1.4 %, and in young animals the prevalence was 0.8 %, whereas it was 0% in animals with age over 5 years. Our study suggests the application of slaughter policy of the infected animals, making serodiagnosis of the rest of animals, finaly, a system of vaccination accompanied by better surveillance to avoid contamination between the herds should be applied.

Key words: serological survey, ovine brucellosis, the prevalence, vaccination, serodiagnosis, the rose Bengal test, herds.

ملخص
أجري مسح مصلي في مزارع و مذبحة الأغنام في محافظة المدية لتقييم مدى انتشار مرض الحم المالطية عند الأغنام .في عينة الأغنام تم فحص جميع الأعمار بواسطة اختبار الوردي Bengal كانت نسبةالعدوى 2٪ عند القطيع، وكانت معدلات انتشار نسب الجنس 1.342٪ للذكور و 0٪ عند الإناث,متوسط عمر الحيوانات يعرض أعلى معدلات انتشار ، الذي كان 1.449٪، وكانت الحيوانات الصغيرة بنسبةانتشار 0.775٪، في حين كان 0٪ في الحيوانات أكثر من 5 سنوات من العمر . تشير دراستنا إلى ذبح الحيوانات المصابة وجعل الأمصال لبقية القطعان ونظام تطعيم يرافقه مراقبة أفضل لمنعالعدوى بين الحيوانات.

كلماتمفتاحية: التحقيق، الأغنام، انتشار الحمى المتموجة، الأمصال والتطعيم،RBT، الماشية.

Liste des tableaux

Titre des tableaux page

Tableau 1 : Différentiation des biovars des espèces du genre *Brucella*.6

Tableau 2 : les différance biovars de brucella melitensis. **9**

Tableau 3 : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic 19
Sérologique.

Tableau 4 : la prévalence de la brucellose selon les caractéristiques 31
des ovinsPrélevés.

Tableau 05 :La répartition des ovins testés selon le sexe. 32

Tableau 06 : La séroprévalence chez les deux sexes. 33

Tableau 07 : Le nombre des animaux testés selon l'âge. 34

Tableau 8 : La séroprévalence selon l'âge. 34

Tableau 9 : pourcentage des prélèvements positifs selon le sexe de l'animale. 35

Tableau 10 : Évolution de l'incidence de la brucellose ovine dans la wilaya de
Médea de 2000 à 2005 38

Liste des figures

Titre des figures page

Figure 1 : Culture de Brucella de 48H Sur le plan métabolique. 7

Figure 2 : sérodiagnostics de wright : réaction d'agglutination en tube. 17

Figure 3 :la carte géographique de la wilaya de Médea. 25

Figure4:Matériels pour réaliser les prélèvements. 26

Figure 5 : Matériels pour la collection de sérum. 27

Figure 6 : Matériels pour réalisé le teste RBT. 27

Figure 7: Matériels pour la collection de sérum. 28

Figure 8 : Plaques de manipulation du test RBT. 30

Figure 9:Plaque de faïence contenant le sérum et le rose bangal 31

Figure 10 : La répartition des ovins testés selon le sexe. 33

Figure 11 : la séroprévalence chez lesmales et les femelles 33

Figure 12:la séroprévalence des ovins testés selon l'âge. 34

Figure 13:la séroprévalence des ovins testés selon l'âge. 35

Figure 14 : le pourcentage de prélèvements positifs selon le sexe de l'animale 35

Figure 15 : pourcentage des prélèvements positifs selon l'âge. 36

Liste des abréviations

AC Anticorps.

AND Acide Disoxyribonuclease.

Ag Antigène.

B Brucella.

BPA Buffered Plate Agglutination (épreuve de l'antigène BPA).

DSV Direction de Service Vétérinaire.

EAT Epreuve à l'Antigène Tamponnée.

ELISA Indirect Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay.

FAO Food and Agriculture Organization.

FC Fixation de Complément.

FPA Fluorescence Polarisation Assay.

ICFTU International Complément Fixation Test Units.

IgG Immunoglobuline G

IgM Immunoglobuline M

LPS Lipopolysacharide.

LPS-S Lipopolysacharide de la Surface.

OIE Organisation Mondiale de la Santé Animale.

OMS l'Organisation Mondiale de la Santé.

PCR Polymérisation Chaine Réaction.

PH Potentiel Hydrogène.

RBT Rose Bangal Test.

RFLP Polymorphisme de Longueur de Fragment de Restriction (Restriction Fragment Lenth Polymorphisme).

UE United Européenne.

INTRODUCTION

Introduction

La« brucellose », Maladie infectieuse, contagieuse età déclaration obligatoire frappant plusieursespèces animales et l'homme (zoonose) due à une bactérie du genre *brucella*[1]. La brucellose ovine due essentiellement à *B. melitensis* sévit particulièrement dans le pourtour du bassin méditerrané [2].Labrucellose se caractérise cliniquement parl'avortement chez les femelles (au dernier tiers dela gestation plus généralement vers le 6ème ou7ème mois chez les bovins.), une atteinteurogénitale chez le mâle le plus souvent sousforme d'orchite, d'hygromas, d'épididymite etl'infertilité [1].

L'Algérie fait partie des pays endémiques enregistrant de forte séroprévalence dans certaines wilayas. En effet une séroprévalence de 5,26±0,8% a été signalée dans des zones d'élevages des hauts plateaux (DSV, 2002).

La brucellose ovine c'est une zoonose qui constitue une perte importante aussi bien pour l'éleveur que pour l'économie nationale, en menaçant la productivité de l'élevage (avortement) par manque à gagner dans les produits et leurs dérivées mais aussi par l'infertilité, les mortinatalités et autre trouble de la reproduction,

La situation épidémiologique de la brucellose ovine dans la wilaya de Médéa reste très peu connue, puisque comme l'atteste les bulletins zoosanitaires, seuls les bovins et les caprins sont dépistés.

Notre présente étude a pour objectif le dépistage sérologique de la brucellose ovine au niveau des élevages et les abattoirs de la Wilaya de Médea.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUES

PARIE EXPIREMENTALE

I. Généralité

La brucellose ou fièvre de Malte ou Mélitococcie est une maladie réputée contagieuse et classée sur la liste unique des maladies animales graves de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale [3]. Cette maladie infectieuse, contagieuse et transmissible, se manifeste habituellement chez les animaux, sur le plan clinique, par des avortements d'où le nom d'avortement épizootique.

I.1.Historique

- **En 1887 :** Brucella melitensis a d'abord été isolé par Sir David Bruce de la rate d'un soldat britannique sur l'île De Malte, et a été dénommé *Micrococcus melitensis* [4].
- **en 1897 :** une avance significative fut faite Par le professeur Almroth Wright à l'École de médecine de l'Armée À Netley en Angleterre. Il a appliqué l'agglutination de Widal Technique pour distinguer la fièvre typhoïde de la fièvre ondulante En utilisant des cultures de bactéries [4].
- **En 1903 :** Un médecin de l'armée britannique, David Bruce, a écrit à la coloniale Office demandant que le nom officiel soit la fièvre méditerranéenne, Un nom qu'il avait déjà proposé en 1894[4].
- **En 1904 :** le Dr Themistocles Zammit, un bactériologiste maltais qui travaille Laboratoire gouvernemental de Valletta, a modifié ce critère En examinant la réaction sur une lame au microscope. Plus tard, Il a utilisé ce test, qui est venu pour être connu comme Zammit Test, non seulement pour le sérum, mais aussi pour le lait [4].
- **En 1906 :** Une épidémie de brucellose à Oran (Algérie) a été tracée au contact d'un harnais contaminé Avec l'urine d'une mule infectée [4].
- **En 1906 :** l'utilisation du lait de chèvre par les services armés britanniques ont été interdits et le nombre Des cas a été considérablement réduite [4].
- **En 1911 :** La France connaît sa première épidémie de fièvre de Malte en dans le Gard (Saint Martial du Gard), suite à l'introduction de chèvres provenant de l'île de Malte.
- **En 1914 :** aux Etats-Unis, un autre réservoir animal est identifiée, à savoir les porcins dans le cadre d'avortement de truies par le vétérinaire Jacob Traum [5 ,].
- **En 1918 :** Alice Evans démontre le lien de parenté qui existe entre le *Micrococcus melitensis* de Bruce et le *bacillus abortus bovis* de Bang [6 ,7].
- **En 1920 :** Meyer et Shaw ont renommé la bactérie *Brucella melitensis* en l'honneur du Dr Bruce [4].

- **En 1953 :** Buddle et Boyes en Nouvelle-Zélande isolent *Brucella Ovis* responsable de l'épididymite contagieuse du bélier [7].

- **En 1957 :** Stoenner et Lackman découvre une nouvelle espèce chez de petits rongeurs du genre muridé (Néotomae Lépida) vivant dans les régions désertiques de l'Utah aux Etats-Unis; ils l'appellent *Brucella néotomae* [7].
- **En 1968 :** Cramichael et Bruner isolent *Brucella Canis* chez des chiens élevés en chenils tels les beagles [7].

- **En 1996 :** en France une souche (B.ceti) a été isolé d'un dauphin) la Rochelle et en 2005, d'un marsouin dans le Cotentin [8].
- **En 2005 :** cent ans après les expériences de Zammit, Malte a finalement été déclarée indemne de brucellose [4].

I.1.1.Historique de la Brucellose en Algérie

En Algérie, les premières descriptions de brucellose ont été faites en 1895 par « Cochez » qui soupçonna l'existence de cette maladie à Alger, et en 1899 par Legrain dans la vallée de la Soummam [9, 10].

Dès la découverte de la brucellose en Algérie, plusieurs travaux relièrent son existence à l'importance de chèvres espagnole, de chèvres et de vaches maltaises, d'autres expliquent l'introduction de la maladie à l'ouest du pays par les cavernes marocaines.

En 1940, Mignot affirma que l'existence de cette maladie dans la Hoggar n'aurait pu avoir pour mode d'introduction que les cavernes maliennes [10].

I.2.Définition

La brucellose ovine (ou mélitococcie) est une maladie infectieuse et contagieuse, transmissible à l'homme et à de nombreuses espèces animales, due presque exclusivement à *B. melitensis* et affectant les organes de la reproduction (avortements chez la brebis ou la chèvre, orchite et épididymite chez les mâles). Il faut distinguer la brucellose ovine (brucellose *sensu stricto*) due à *B. melitensis* de l'infection causée par *Brucella ovis*, dénommée" épididymite contagieuse du bélier"[11].

I.3.Synonymie

Selon Lounes (2007) [12], la brucellose peut être désignée sous différentes appellations, parmi lesquelles :

- Fièvre méditerranéenne.
- Fièvre de malte.
- Fièvre ondulante.
- Mélitococcie.
- Fièvre abortive.
- Fièvre sudoro-algique.
- Avortement contagieuse.
- Avortement infectieuse.
- Avortement épizootique.
- Epididymite contagieuse du bélier (ovin).

I.4.Importance

La brucellose est considérée comme la zoonose la plus répandue dans le monde [13]. Elle provoque de très importantes pertes économiques en élevage [14, 15,16,17] et représente un danger de santé publique non négligeable [18,], surtout dans les régions du monde où le bétail est la source principale d'aliments et de revenus [19].

Elle pose un double problème : économique et sanitaire [20,21]. L'homme est également atteint et, elle est considérée comme l'une des zoonoses les plus répandues dans le monde [1].

I.4.1.Impacte sur la production Animale

Les impacts économiques varient selon les espèces, les systèmes de gestion d'élevage, les zones géographiques, les méthodes de diagnostics, la capacité des systèmes vétérinaires et médicaux de chaque pays [22, 13,23.]

La maladie entraine des conséquences sérieuses dans les élevages: avortements, mortinatalité, stérilité des adultes, pertes en lait et en viande. Ces pertes économiques Sont très variables selon les pays, car des données très diverses doivent être prises en compte: extension de la maladie, espèces animales atteintes, valeur relative des animaux en fonction des données économiques du pays concerne, possibilités de reconstituer un cheptel sain, besoins alimentaires de la population, etc.

Les conséquences ne sont pas les mêmes dans les pays riches et les pays pauvres mais elles sont toujours lourdes a supporter. Bien que très difficiles a chiffrer, plusieurs pays en donnent

des estimations très importantes. En 1961, aux Etats-Unis d'Amérique, on estimait a 25 millions de dollars par an les pertes causées par la brucellose bovine, la brucellose porcine ne pouvant être chiffrée. En France, les pertes consécutives à la brucellose bovine, ovine et caprine ont été évaluées a 300 millions de francs pour l'année 1971[24].

I.4.2.Impacte sur la santé publique

En sa qualité de zoonose la plus répandue dans le monde, elle représente également une menace sérieuse pour la santé humaine et le bien-être des populations [25, 26, 27].

La maladie est mondialement répandue et peut se transmettre à l'homme dans certaines circonstances. C'est une infection systémique caractérisée par un important polymorphisme clinique et avec des manifestations peu spécifiques mais qui peut entraîner des complications graves nécessitant souvent une hospitalisation, des traitements longs et contraignants.

Des formes chroniques peuvent également survenir chez certains patients.

Chez l'homme, la maladie se manifeste par une fièvre intermittente ou irrégulière, des céphalées, une faiblesse, une sudation abondante, des frissons, une perte de poids et des douleurs généralisées.

On peut aussi observer une atteinte d'organes notamment le foie ou la rate. Les vétérinaires, les éleveurs et le personnel des abattoirs sont exposés à l'infection qui se produit en manipulant les animaux infectés, les avortons et les placentas.

La brucellose fait partie des infections les plus faciles à contracter en laboratoire et des mesures de sécurité strictes doivent être observées au moment de la manipulation des cultures et des prélèvements fortement infectés tels que les produits d'avortement.

La consommation de lait non pasteurisé provenant d'animaux infectés peut également être un mode de transmission de la maladie à l'homme [28].

II. Agent pathogène

L'agent étiologique de la brucellose est une bactérie intracellulaire facultative «*Brucella spp* », classée dans le groupe III de risque biologique pour l'homme ou l'animal et inscrite sur la liste des agents potentiels de bioterrorisme [29].

II.1.Le genre *Brucella*

Il appartient à la classe des alpha-protéobacteries, l'ordre des *Rhizobiaceae* et à la famille des *Brucellacea*e [30].

Conformément à la définition phylogénétique d'une espèce, le genre *Brucella* est divisé en six (6) espèces elles mêmes séparées en biovars, en fonction d'une relative spécificité vis-à-vis de leur espèce hôte animal naturel. On distingue: *B. melitensis* (3 biovars), *B. abortus* (9 biovars) le plus souvent rencontré en Afrique, B. suis (5 biovars), *B. ovis*, *B. canis* et *B. neotomae*. Deux espèces identifiées chez des mammifères marins ont été proposées: *B. ceti* chez les dauphins et *B. pinnipedialis* chez les pinnipèdes [31]. En 2007, une autre espèce B. *microti* est isolée chez les campagnols (*Microtus arvalis*) en République Tchèque et en 2008 chez les renards sauvages en Autriche [32]. L'espèce *B. inopinata* a été isolée aux Etats Unis à partir d'une prothèse mammaire d'une patiente par SCHOLZ et *al*., en 2009 [33] et porte le nombre d'espèces de *Brucella* à dix à nos jours. Les brucelles affichent une proximité génétique avec quelques bactéries pathogènes ou symbiotiques des plantes du genre *Agrobacterium et rhizobium*, avec des pathogènes animaux (*Bartonella*) et avec des bactéries opportunistes ou telluriques (*Ochrobactrum*) [2].

Tableau 1 : Différentiation des biovars des espèces du genre *Brucella*

Espèce	Biovars	Réservoir	Pathogénicité pour l'Homme
B. melitensis	1-3	Caprins, ovins, camélidés	Très forte
B. abortus	1-6 ; 9	Bovins, camélidés, yacks, buffles	Forte à très forte
B. suis	1-5	Suidés (1-3), lièvres (2), caribous et rennes (4), rongeurs sauvages (5)	Forte pour les biovars 1 et 3, modérée pour le biovar 4, faible pour le biovar 2 et inconnue pour le biovar 5
B. canis	-	Canidés	Faible
B. ovis	-	Ovins	Non pathogène
B. neotomae	-	Rongeurs	Inconnue
B. pinnipediae et B. cetaceae	-	Baleine, dauphins, phoques, morses	Forte pour certaines espèces, inconnue pour les autres

Source : étude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, 2002-2004, INVS 2007
Disponible sur : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4036

II.2.Principales caractéristiques microbiologique des *Brucella*

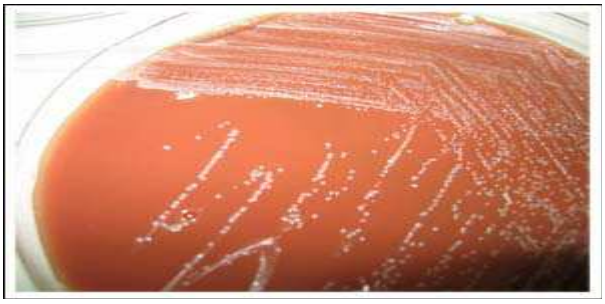


Figure 1 : Culture de *Brucella* de 48H

Sur le plan métabolique : elle est catalase (+), oxydase (+) et urease (+).

Le genre *Brucella* et ses espèces ont été définis comme suit :

Petits cocci immobiles, Gram négatifs, coccobacilles ou bâtonnets courts aux bords droits ou légèrement convexes et aux extrémités arrondies, de 0,5- 0,7/um de large sur 0,6-1,5/um de long. Se présentent individuellement, plus rarement en paires, en chaînes courtes ou en petites grappes. Ils ne produisent pas de capsules, de spores ni de flagelles.

Ils ne sont pas acido-résistants mais peuvent résister à la décoloration par les acides faibles ou par les alcalins comme dans les méthodes de coloration de Macchiavello ou de Köster modifiée.

Aérobies, possédant un métabolisme respiratoire. De nombreuses souches exigent un supplément (5 à 10%) de C 0 2 pour leur croissance, surtout pour le premier isolement. Chimio-organotrophiques avec des besoins nutritionnels complets, y compris en nombreux acides aminés, thiamine, nicotamide, biotine et magnésium.

Catalase positives et habituellement oxydase positives, mais *B. neotomae, B. ovis* et quelques souches de *B. abortus* sont oxydase négatives.

Ne fermentent pas les hydrates de carbone dans les milieux conventionnels sauf *B. neotomae*. Oxydent de nombreux acides aminés et les hydrates de carbone. Réduisent les nitrates en nitrites sauf *B. ovis*. L'urée est hydrolysée mais à un degré variable. La production d'H2S varie en fonction des espèces et des biotypes. Les températures varient de 20° à 40°C, l'optimum étant 37°C. Le pH optimum est compris entre 6,6 et 7,4 et la pression osmotique optimale entre 2 et 6 atmosphères (0,05-0,15 mole NaCl).

Les principaux antigènes de surface diffèrent selon le caractère lisse ou non lisse des souches, tandis que certains antigènes intracellulaires sont communs à toutes les espèces. La teneur en guanine + cytosine de l'ADN varie de 56 à 58 moles pour cent (densité à l'équilibre). Les séquences de poly nucléotides de l'ADN montrent 90% d'homologie dans les études d'hybridation.

Ce sont des parasites intracellulaires facultatifs produisant des maladies caractéristiques dans une large gamme d'animaux [34].

II.3. Pouvoir antigénique et immunogène

Les travaux les plus importants menés sur les antigènes brucelliques se réfèrent aux antigènes pour l'élaboration des vaccins et aux antigènes de diagnostic. On distingue :

- **Les antigènes membranaires de surface** dont l'Ag A dominant chez *B. abortus* et l'Ag M chez *B. melitensis* et à proportion égale chez *B. suis*. Ils sont constitués de LPS de surface de type S (Smooth). Quant-à l'antigène R (Rough), il est rencontré seulement chez *B. ovis* et *B. canis.* Les LPS sont responsables du développement des anticorps détectés chez l'hôte.

- Des antigènes alternatifs ont été évalués et restent des candidats sérieux pour le diagnostic de la brucellose et/ou l'élaboration des vaccins. Ce sont :

La protéine périplasmique BP26 [35], les protéines ribosomiales L7/L12 [36] et la protéine cytoplasmique 18KDa [37], tous cités par [38].

Cependant aucun de ces antigènes n'égale l'immunogénicité dominante du LPS, cible des tests diagnostics classiques qui présentent donc toujours des performances pour le moment. L'immunité est à la fois à médiation humorale mais surtout à médiation cellulaire et variable selon les souches. Dans les conditions naturelles, il existe une protection pour les animaux déjà infectés. C'est le cas de la brebis qui avorte une seule fois et de la vache qui avorte plusieurs fois mais à un rythme décroissant.

II.4.Caractéristiques microbiologique de *Brucella melitensis*

C02 indépendante, Ne produit pas d ' H 2S, ou à peine une trace en milieu peptoné. Croissance habituelle en présence de fuchsine basique et de thionine. Hydrolyse habituellement l'urée. Les souches lisses peuvent réagir avec les antisérums mono spécifiques M, A ou A et M selon les biotypes.

Oxyde la L-alanine, la L-asparagine, l'acide L-glutamique, le .D-glucose et l'i-erythritol. N'oxyde pas le L-arabinose, le D-galactose, le D-ribose, le D-xylose, la L-arginine, la DL-citrulline, la DL-ornithine ou la L-lysine.

Elle est habituellement pathogène pour les moutons et les chèvres mais peut infecter les bovins et l'homme [34].

Souches de référence F.A.O. /O.M.S. (néo type et biotypes) :

B. melitensis 16M	(biotype1)	10094	23456
B. melitensis 63/9	(biotype2)	10508	23457
B. melitensis Ether	(biotype3)	10509	23458

Tableau 2 : les différance biovars de brucella melitensis ***:***

Espèce	biotype	Exigence en CO2	production d'H2S	la croissance sur milieu contenant (a)		Agglutination avec des AC mono spécifiques		
				thionine Fuschine	basique	A	M	R
B .melitensis	1	_	_	+	+	_	+	_
	2	_	_	+	+	+	_	_
	3	_	_	+	+	+	+	_

(a) : concentration finale de colorant : 1/50.000 (poids/volume)

(A) : sérum anti- *Brucella* obtenue à partir de *B. melitensis*.

(M) : sérum anti-*Brucella* obtenue à partir de *B. abortus*.

(R) : sérum anti-*Brucella* en phase R.

III. Epidémiologie

III.1.Epidémiologie descriptive

L'infection à *B. melitensis* est moins largement répartie dans le monde que celle de *B. abortus* chez les bovins. Elle suit en fait la répartition de l'élevage ovin, son importance relative étant maximale dans les pays circum-méditerranéens (cette région représente d'ailleurs le berceau de la mélitococcie).

Les pays d'élevage intensif du mouton comme l'Australie, la Nouvelle Zélande ou la République Sud-Africaine sont indemnes. Au sein de l'UE, la maladie sévit encore régionalement à l'état enzootique dans quelques pays (Grèce, Italie, Portugal, Espagne).

-La situation en France, aujourd'hui très favorable, contraste avec celle du passé : aucun foyer n'a été mis en évidence depuis 2004, et la vaccination n'est plus pratiquée depuis 2008, ce qui permet à la France d'être officiellement indemne de brucellose ovine et caprine [11].

III.1.2.Brucellose ovine en Algérie

La prévalence de la brucellose ovine en Algérie n'est pas vraiment documentée ; une enquête a été réalisée en 2002 pour évaluée la séroprévalence de cette maladie chez les petites ruminants, dans des zones d'élevages que sont les hauts plateaux. Les résultats ont montré des prévalences plus fortes chez les caprins (5,26±0,8% en moyenne) que chez les ovins. La répartition géographique montrait une assez forte prévalence dans les wilayas de l'est par rapport à l'ouest, et du nord par rapport au sud [39].

Les petits ruminants sont la principale source de contamination en Algérie. Le nombre de cas humains de brucellose reste important, autour de 7000 cas par an !sur le plan géographique, 82% des cas se retrouvent en milieu rural steppique, notamment dans les wilayas suivantes : Laghouat, Biskra, Tébessa, Tiaret, Djelfa, M'sila et Khenchla [39].

La situation de la transmission de l'animal à l'homme devenant préoccupante, notamment à partir des années 2004/2005, il a été décidé, par la Direction des services vétérinaires (DSV) la mise en place d'un programme de prophylaxie médicale, touchant des wilayas pilotes à haut risque zoonotique, comme déjà mentionné plus haut [39].

III.2.Epidémiologie analytique

III.2.1. Sources de contagion

Elles sont représentées par les ovins et caprins malades ou infectés (surtout en période d'agnelage), et éventuellement d'autres espèces animales infectées (bovins, chiens, ruminants

sauvages…). Le bélier ou le bouc peuvent jouer un rôle important dans la persistance et la dissémination de l'infection (fréquence des formes inapparentes, persistance du portage). La persistance du germe dans l'environnement joue également un rôle important [40].

III.2.2. Modes de transmission

III.2.2.1.Transmission verticale

Elle peut se réaliser *in utero* (naissance d'un veau viable mais infecté) ou lors du passage du nouveau né dans la filière pelvienne.

Les jeunes, plus résistants, se débarrassent généralement de l'infection. L'infection persiste toutefois jusqu'à l'âge adulte chez environ 5 à 10% des veaux nés de mère brucellique, sans susciter de réaction sérologique décelable.

Les signes cliniques (avortement éventuel) et la réaction sérologique n'apparaîtront, chez les jeunes femelles infectées, qu'à la faveur de la première gestation, voire plus tard.

III.2.2.2.Transmission horizontale : directe et indirecte

.**Directe :** contacts directs entre individus infectés et individus sains lors de la cohabitation (notamment en période de mise-bas), ingestion, contamination vénérienne.

.**Indirecte :** par l'intermédiaire des locaux, pâturages, véhicules de transport, aliments, eaux, matériel divers (matériel de vêlage...) contaminés par les matières virulentes [11].

III.2.2.3.Transmission à l'homme

Certaines professions sont associées à un risque élevé d'infection par la brucellose.

Il s'agit notamment des personnes qui travaillent avec des animaux de ferme, en particulier le bétail, Moutons, chèvres et porcs: agriculteurs, ouvriers agricoles, préposés aux animaux, Bergers, éleveurs de moutons, chèvres, gardiens de porcs, vétérinaires et inséminateurs

Sont exposés à des risques par contact direct avec des animaux infectés ou par

Environnement fortement contaminé. Une infection peut se produire par inhalation,

Contamination, contamination accidentelle, contamination de la peau, notamment par une auto-inoculation accidentelle avec des vaccins vivants.

Les personnes impliquées dans la transformation de produits d'origine animale risquent

Exposition à la brucellose. Il s'agit notamment d'abattoirs, bouchers, charcutiers, Collecteurs de sérum de veau fœtal, transformateurs de cuirs, peaux et laines et les travailleurs laitiers.

Le personnel de laboratoire impliqué dans la culture de *Brucella* est particulièrement à risque.

La préparation et l'utilisation de vaccins vivants sont également dangereuses Comme *B. abortus* S19 et *B. melitensis Rev 1* ne sont pas complètement non virulents pour humains [41].

II.2.3.Voies de pénétration : cutanée, conjonctivale, respiratoire, digestive et vénérienne.

III.3.Epidémiologie synthétique

Les causes les plus fréquentes de contamination d'un cheptel restent l'introduction d'un animal infecté inapparent et les contaminations de voisinage. Une fois introduite au sein d'une exploitation, la maladie diffuse très rapidement et peut atteindre tout l'effectif mais surtout les femelles à maturité sexuelle. Elle se répand dans les autres troupeaux de tout le pays sous un mode épizootique avec des avortements en série ou de façon progressive sous un mode enzootique. La conservation de jeunes femelles nées de mères infectées est aussi à l'origine d'une résurgence de la maladie dans les cheptels assainis. La maladie est plus fréquente en milieu rural qu'en milieu urbain [42].

IV. Etude clinique

IV.1. Symptômes

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

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

L'infection des mâles est généralement inapparente, avec parfois des orchites ou épididymites.

Des mammites se déclarent parfois, et peuvent toucher beaucoup d'animaux, au stade clinique, avec des nodules inflammatoires et du lait grumeleux. Les arthrites et bursites sont rares chez les petits ruminants.[44]

Epididymite contagieuse du bélier

C'est une maladie due à *Brucella ovis*, touchant exclusivement les ovins, et qui se caractérise par l'évolution chez le bélier d'une inflammation chronique de l'épididyme aboutissant à une baisse importante de fertilité.

Elle est très largement répandue dans le monde, et son importance est uniquement économique, à cause de la baisse du taux de naissance qu'elle entraîne au niveau du troupeau. L'inflammation est souvent localisée à la queue de l'épididyme, et est unilatérale dans 70% des cas. [45]

IV.2.Lésions

Les plus courantes sont des rétentions placentaires et des endométrites, plus fréquentes chez les caprins que chez les ovins. Les femelles ayant avorté présentent souvent une métrite suppurative avec des suffusions hémorragiques sur les cotylédons, ainsi qu'une endométrite. Dans le placenta, on peut observer une infiltration gélatineuse jaunâtre, et des fausses membranes fibrineuses, localisées sur une partie ou généralisées.[46]

V. Physiopathologie [68]

Les *Brucella* pénètrent l'organisme par plusieurs voies: cutanée, digestive ou respiratoire, puis gagnent par voie lymphatique le premier relais ganglionnaire.

Elles se multiplient et disséminent dans tout l'organisme par voie lymphatique et sanguine (bactériémie). Ces germes sont phagocytés plus ou moins rapidement par les macrophages puis détruits avec libération d'antigène et d'endotoxine.

Ce sont des parasites intracellulaires facultatifs du système réticulo-histocytaire (splénomégalie, hépatomégalie). Il y a réponse immunitaire par production d'anticorps permettant le sérodiagnostic de la maladie. Leur rôle protecteur semble réel mais secondaire par rapport à l'immunité cellulaire. [68]

- L'immunité à médiation cellulaire est essentielle pour la défense de l'organisme contre l'infection. Les lymphocytes T spécifiques interviennent au cours de la primo-infection en augmentant l'activité bactéricide intrinsèque des macrophages(« activation macrophagique ») et en provoquant un afflux locale de cellules mononuclées provenant de la moelle osseuse(< recrutement des monocytes ») .dans la majorité des cas ces évènements sont observés dans la brucelloses et conduisent à la destruction des bactéries au sein du granulome caractéristique d'une infection à parasite intracellulaire(présente de cellules épithéloides, de cellules géantes, de cellules T).

Cependant, la brucellose se présente parfois comme une maladie d'évolution prolongée, avec des rechutes fréquentes malgré un traitement antibiotique adapté et des « réactivations » toujours possibles à partir d'un foyer jusque-là quiescent.

Les Brucella sont parfois capables d'échapper aux mécanismes immunitaires spécifiques qui devraient aboutir à leur élimination. Les mécanismes de cette résistance restent obscurs, mais les macrophages infectés par les brucelles semblent capables d'empêcher l'action des cellules T spécifiques de mobilisées dans les foyers infectieux. Cet effet inhibiteur sur les cellules T locales abouterait essentiellement à un défaut de recrutement des monocytes médullaires. Par ailleurs, l'induction des cellules T spécifiques lors de la primo-infection permettent de protéger l'hôte contre des réinfections par des brucelles. [68]

Cette véritable mémoire immunologique n'apparait qu'après l'introduction de bactéries vivantes dans l'organisme. La vaccination contre la brucellose requiert donc en théorie l'emploie de vaccin "atténués" (type B. abortus souche B *19)* pour obtenir une protection efficace et de longue durée. [68]

VI. Diagnostic

VI.1.Diagnostic clinique

On suspectera la brucellose au sein d'un cheptel en cas d'avortements tardifs avec rétention partielle ou totale du placenta, de stérilité ou de prolongation des intervalles de mises bas, d'arthrites, de mammites, d'orchites et d'échecs répétitifs à l'insémination artificielle [43]. Le diagnostic différentiel de la brucellose repose sur les maladies abortives d'origine infectieuse (campylobactériose, salmonellose, fièvre Q, chlamydiose, listériose, fièvre de la Vallée du Rift, etc.) ou d'origine parasitaire (toxoplasmose, etc.). Il repose également sur des maladies d'origine alimentaire ou traumatique [47]. C'est pourquoi, il est nécessaire d'avoir recours à d'autres méthodes qui utilisent surtout la bactériologie, et les marqueurs de l'infection (sérologie et allergologie).

VI.2.Diagnostic expérimentale

VI.2.1. Les prélèvements

Les plus souvent utilisés pour le diagnostic de laboratoire sont : des calottes placentaires, du liquide utérin, l'avorton lors d'un avortement, ou du sang. On utilise aussi parfois du colostrum, du sperme, des sécrétions vaginales, ou du tissu et des nœuds lymphatiques. Le dépistage est possible à partir de sang sur tube sec ou de lait de mélange récolté dans le tank [48].

VI.2.2. L'examen direct

La première méthode consiste à fixer sur lame les prélèvements par la chaleur à 37°C ou à l'éthanol puis les colorer par la méthode de Koster et Stamp ou par immunofluorescence. Les Brucelles sont identifiées au microscope sous forme d'agrégats intracellulaires. C'est une méthode sure, mais peu spécifique (confusion possible avec *Chlamydia* et *Coxiella),* fastidieux et dangereux de part la manipulation.

De plus, elle présente une faible sensibilité pour le lait et produits laitiers où les brucellas sont en faible quantité et l'interprétation est souvent rendue difficile par la présence des globules gras.

La deuxième méthode est utilisée pour typer la souche bactérienne (espèce et biovars)

Elle consiste à isoler et mettre en culture sur milieux sélectifs pendant trois à quatre jours pour obtenir des colonies de brucelles constantes rondes, translucides, lisses ou rugueuses, convexes à contours nets [44].

.L'isolement et identification

L'isolement et l'identification de *B.melitensis* permettent de poser un diagnostic définitif. Les milieux de culture les plus fréquemment employés sont la gélose Albimi et la gélose trypticase soja avec 5 % de sérum fœtal bovin. Les milieux sélectifs sont celui de Kudzas et Morse, et celui de Farrell [49].

La forme des colonies, le mode de coloration, les tests de l'oxydase et de l'urease ainsi que l'agglutination avec un sérum mono-spécifique, anti-S ou anti-R permettent de déterminer si le micro-organisme en question fait ou non partie de genre *Brucella.* Pour l'identification précise, il convient de recourir à d'autre technique comme les besoin en CO2, la production d'H2S, la croissance en présence de colorants (fuschine basique et thionine aux concentrations de 1 :25000, 1 :50000, 1 :10000) ou l'agglutination par des sérums mono-spécifique préparés sur lapin (anti-A, anti-M et anti-R) [49].

VI.2.3. le diagnostic sérologique ou l'examen indirect

Le diagnostic et le dépistage sérologiques sont très utilisés, sur sérum ou lait. Les anticorps détectés sont ceux dirigés contre les épitopes du LPS, ce qui entraîne des problèmes de parenté entre *Brucella abortus* et d'autres bactéries. En effet, lorsque la prévalence est faible, la valeur prédictive de ces tests diminue car beaucoup de faux positifs apparaissent, notamment à cause d'une réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica*.

De plus, l'intensité et la durée de la réponse humorale sont très variables en fonction des individus et des doses infectieuses, avec aussi des variations qualitatives. La période la plus efficace pour réaliser ce test chez les petits ruminants est le post-agnelage, puisque les titres en anticorps sont alors très élevés. Mais aucun de ces tests ne détecte tous les animaux infectés.

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux définis par l'Office International des Epizooties, et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits. Ainsi, pour la production d'antigènes de diagnostic, seules les souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *Brucella abortus* peuvent être utilisées. Ces souches doivent être complètement « Smooth » et ne doivent pas agglutiner en milieu salin. Elles doivent provenir de cultures pures et se montrer conformes aux caractéristiques de *Brucella abortus* biovar1 d'indépendance vis-à-vis du CO2 [44].

IV.2.3.1 Test de l'anneau ou Ring test

Il s'agit d'une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Il est particulièrement bien adapté au dépistage d'une éventuelle infection dans un troupeau laitier. La présence de réactions positives douteuses ou de faux positifs (animaux récemment vaccinés, colostrum ou lait de mammite) est due à la sensibilité du test [51], nécessitant alors une confirmation par ELISA.

Le mode opératoire est le suivant :

- Placer l'antigène une heure à température ambiante (18-23°C) avant le début des tests
- Agiter avec soin l'antigène au moment de l'emploi
- Homogénéiser les laits à tester par agitation (après les avoir conservés au moins 24h à +4°C), puis les répartir en tubes de 1 ml (il faut du lait non dilué pour analyser du lait de mélange, et du lait dilué de 1/1 à 1/16 dans un lait négatif pour analyser du lait individuel). La taille de la colonne de lait dans le tube doit être d'au moins 25 mm. Les échantillons de lait ne doivent pas avoir été congelés, chauffés ou violemment remués.
- Ajouter 50 µL d'antigène
- Mélanger soigneusement
- Incuber une heure à l'étuve à 37°C, puis 18 à 20h entre +2 et +8°C
- Effectuer la lecture (une incubation de toute une nuit à 4°C augmente la sensibilité du test et permet une lecture plus facile)

Il est préférable d'avoir comme témoins un lait positifs et un lait négatif [44].

Pour l'interprétation, si l'anneau de crème est moins coloré que le lait sous jacent, cela signifie qu'il n'y a pas d'anticorps, tandis que si l'anneau de crème est plus ou autant coloré que le lait sous jacent, des anticorps doivent être présents. Une réaction fortement positive est indiquée par la formation d'un anneau bleu/violet au dessus d'une colonne de lait, mais tout dépôt bleu à l'interface entre le lait et la crème doit être considéré comme positif car il peut être révélateur, surtout dans les gros troupeaux. Un lait individuel est considéré comme positif à partir de la dilution au 1/8 [48].

IV.2.3.2. Epreuve de l'Antigène Tamponnée (EAT) ou Rose Bengale (voir partie expérimentale)

IV.2.3.3. ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

L'ELISA indirect ou ELISA utilise comme antigène le LPS-S. En plus d'être automatisable, rapide, et performant, il est considéré comme le meilleur test de tamisage utilisé dans les

programmes de suivi et de contrôle de la Brucellose [52]. Il permet de valider des résultats dans des conditions de contrôle de la qualité et se prête à l'analyse d'un nombre élevé d'échantillons de lait individuel ou de lait en vrac [53]. L'ELISA est sensible mais sa spécificité est plus faible que celles de l'épreuve de Rose Bengale et de fixation du complément. Il est incapable de différencier certains anticorps post vaccinaux (*B. abortus B19*) [54].

Quant-à l'ELISA de compétition, il est plus spécifique et évite les réactions dues aux anticorps post-vaccinaux du vaccin B19.

Récemment, certains chercheurs ont mis au point une épreuve immuno- enzymatique à l'avidine-biotine (ELISA A-B). Elle est considérée comme une épreuve qui fait preuve de robustesse et de performance en termes de spécificité et de sensibilité (98,8% et 98,2%) comparables à celles de l'épreuve ELISA indirect. De plus, son coût est inférieur à celui des trousses ELISA actuellement commercialisées [55].

IV.2.3.4. Séro-agglutination de Wright :



Figure 2 : sérodiagnostics de wright : réaction d'agglutination en tube

C'est une technique d'agglutination lente en tubes. Des dilutions de sérum à titrer sont mises en présence de quantités constantes d'antigènes brucelliques, puis ces dilutions sont mises à incuber une nuit à 37°C.

Lorsque le sérum est positif, il se forme des complexes antigène/anticorps qui précipitent en formant un culot, tandis que le surnageant devient transparent. Lorsque le sérum est négatif, le mélange réactionnel reste opaque.

Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu comme test de référence par les organismes internationaux.

IV.2.3.5. Fixation du Complément

Cette technique est très utilisée comme test de confirmation mais elle est compliquée à réaliser, demande un équipement de laboratoire sophistiqué et une équipe bien formée. La

fixation du complément peut être réalisée à chaud (37°C pendant 30 minutes) ou à froid (4°C pendant 14-18 heures), avec des caractéristiques légèrement différentes, à adapter à la qualité des sérums testés.

Le protocole est le suivant :

- Des dilutions successives du sérum inactivé sont mises en présence de concentrations constantes d'antigène brucellique ainsi que de complément titré, puis le tout est mis à incuber, au chaud ou au froid.
- Les anticorps éventuellement présents dans le sérum analysé forment des complexes antigène/anticorps, propres à fixer le complément (s'il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le complément reste libre).
- La présence de complément libre est mise en évidence par addition d'un complexe hémolytique : globules rouges de mouton + sérum hémolytique correspondant.

Si des anticorps spécifiques de *Brucella abortus* sont présents, il y a absence d'hémolyse, tandis qu'en l'absence de ces anticorps, une hémolyse se produit.

Il est indispensable de mettre en place différents témoins pour pouvoir interpréter les réactions : un témoin sérum, un témoin antigène, un témoin complément et un témoin globules rouges.

L'interprétation des résultats est standardisée : il existe un système d'unité pour la lecture, basé sur le sérum standard de l'Office International des Epizooties, qui contient 1000 ICFTU (International Complément Fixation Test Units) par millilitre. Chaque laboratoire pratiquant ce test doit donc être agréé pour que ses résultats soient interprétables suivant les normes internationales. Ainsi, les sérums donnant un titre équivalent à 20 ICFTU/ml ou plus sont considérés comme positifs.

Ce test est très spécifique, mais certains faux positifs peuvent apparaître à cause du vaccin S19. Les femelles vaccinées avec le vaccin S19 entre 3 et 6 mois sont considérées comme positives si le sérum donne une fixation positive à un titre de 30 ou plus ICFTU/ml lorsque les animaux sont testés à l'âge de 18 mois ou plus [44].

.Tableau 3 : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique [48] :

Teste	Sensibilité	Spécificité	Immuno-globulines détectées	Distinction vaccin – malade	Cout	Faisabilité
EAT	+++ Selon situation	+++	IgM IgG1	Non	Faible	facile peut sr faire sur le

	épidémiologique		IgG2			terrain
Ring Test	+++ Selon la taille du troupeau	++	IgG	Oui généralement	Faible	Assez facile , mais nécessaire une étuve
séro agglutination de Wright	+++	+	IgG2	Non	Faible	Facile
FC	+++	++++	IgG1 IgG2	Non	n	Complique et nécessite matériel de pointe
BpA	+++	+++	IgG	Non	Faible	Plus compliqué que EAT pour résultats équivalent
ELISA	+++	+++	IgG1 IgG2	Oui	Elever	Difficile
FPA	+++	++++		OUI	Moyen	Facile faible sur le terrain , mais nécessite matériel spécifique

V.3.Diagnostic allergique

Le dépistage allergique consiste en la mise en évidence de l'immunité cellulaire. C'est une intradermo-réaction à la brucelline. La réaction est considérée positive lorsque l'épaississement du pli cutané, constaté 72h après l'injection, est supérieur à deux millimètres. Cette réaction est spécifique mais peu sensible (beaucoup de faux négatifs).

C'est un bon test complémentaire des approches sérologiques mais il ne permet pas non plus de différencier un infecté d'un vacciné. Il n'est jamais mis en œuvre en pratique.

Chez les petits ruminants, on pratique une injection par voie sous-cutanée à la paupière inférieure. Une réaction locale nettement positive se produit au bout de 48h chez les infectés : œdème de la paupière et de la région zygomatique. C'est un moyen de dépistage des troupeaux infectés (et non des animaux infectés), car il y a beaucoup de faux négatifs [44].

IV.4. Diagnostic par biologie moléculaire

Depuis quelques années, l'utilisation de la technique de PCR en temps réel dans le diagnostic de la brucellose se multiplie. C'est une technique d'identification des acides nucléiques par amplification en chaine par polymérase. Elle est réalisée à partir de différents échantillons : sang, lait, sécrétion nasale, rate, sperme, de ganglions lymphatiques et de fœtus avorté [38]. La difficulté majeure provient de la présence possible d'inhibiteurs de PCR et/ou d'une quantité trop importante d'ADN pouvant interférer sur la PCR selon l'origine des échantillons [50]. La PCR sert à la détection des souches vaccinales B19, Rev.1 et RB51. D'autres techniques moléculaires comme la RFLP, le Southern Blot récemment mises au point, permettent également la détection et l'identification des espèces de *Brucella* et de leurs biovars [38].

VI. traitement et prophylaxie

VI.1.Traitement

Le traitement de la brucellose animale est théoriquement possible vu que *Brucella* est sensible aux antibiotiques, notamment aux tétracyclines. Cependant, l'administration d'antibiotique est rigoureusement interdite par les autorités sanitaire en raison de son coût prohibitif, du risque accru d'apparition de Brucella résistances aux antibiotiques, dangereuses pour l'animal comme pour l'homme, ainsi que, l'absence de garantie quant au statut infectieux de l'animal traité [56].

Aucun traitement économiquement supportable n'étant réellement efficace, le traitement des brucellose bovine, ovine, caprine et porcine est formellement interdit par la réglementation.

Tout animal atteint par la brucellose doit être abattu [57].

VI.2.Prophylaxie

VI.2.1.Prophylaxie sanitaire

- Assainissement des troupeaux infectés :

.l'assainissement passe par deux actions complémentaires, c'est-à dire, isolement et élimination précoces de tous les ovins reconnus infectés associés à une destruction du germe éventuellement présent dans l'environnement (désinfection des locaux d'élevage, destruction des matières virulentes...). Toutefois, compte-tenu en particulier de la taille parfois importante des troupeaux et des particularités de l'élevage ovin ou caprin, il faut souligner qu'un résultat définitif ne peut être espéré que si les conditions suivantes sont réunies:

*taux d'infection faible au moment du dépistage (c'est-à-dire infection récente),

*renouvellement fréquent des contrôles (tous les mois par exemple), avec élimination immédiate des positifs,

*cheptel à l'abri des contaminations exogènes (pas de transhumance, pas d'échange de béliers, etc.).

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

- Protection des troupeaux indemnes : elle passe par le contrôle des introductions d'animaux (issus d'élevages indemnes), le contrôle de la transhumance (l'idéal étant de l'interdire aux troupeaux infectés) et le contrôle sérologique et/ou allergique régulier des cheptels [11].

VI.2.2.Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale est justifiée dans les régions fortement infectées car elle représente la seule méthode économiquement utilisable de lutte contre la brucellose. Elle peut aussi compléter efficacement la prophylaxie sanitaire lorsque la prévalence de l'infection des troupeaux s'avère trop importante, et surtout lorsque le brassage important des animaux par transhumance rend son application difficile. Elle est en revanche à proscrire en région indemne ou peu infectée (cas actuellement en France 47) [11].

Vaccination

Les meilleurs résultats d'un programme de vaccination systématique sont obtenus pour une couverture annuelle de 70 % à 90 % pendant 7 à 10 ans sur des veaux de moins de huit (8) mois [58].

Elle est indiquée en milieu très infecté pour limiter les pertes liées aux avortements et en milieu menacé pour réduire les risques de dissémination de l'agent pathogène. En revanche, elle est contre-indiquée en milieu indemne en raison des interférences possibles avec la prophylaxie sanitaire fondée sur le dépistage.

- Pour les petits ruminants, le vaccin le plus efficace est un vaccin à agent vivant préparé à partir de la souche **REV1** de *Brucella melitensis*, qui a un pouvoir pathogène atténué pour les petits ruminants. Son inoculation provoque une hyperthermie transitoire avec anorexie passagère, et parfois une réaction inflammatoire au site d'inoculation. La souche persiste ensuite dans l'organisme. Mais elle est labile en conditions naturelles et doit donc être conservée au frigo. Une seule injection sous cutanée ou conjonctivale aux jeunes femelles de 3-6 mois assure une protection pendant plusieurs années, avec une réponse sérologique limitée qui n'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes.

La dose classique en sous cutanée est de 10-20 milliards de bactéries : les anticorps persistent alors deux ans. Cette même dose injectée par voie conjonctivale entraîne une persistance des anticorps pendant seulement quatre mois.

Il existe deux stratégies vaccinales :

- Vaccination systématique de tous les jeunes (3 à 6 mois) destinés à remplacer les animaux plus âgés du troupeau. C'est la meilleure stratégie pour limiter la diffusion de la maladie et éviter la contamination de l'Homme.
- Vaccination généralisée avec élimination des animaux porteurs d'anticorps [44, 11, 46].

La réponse sérologique des jeunes femelles est limitée et n'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes (pratiqué à partir de 12 mois chez les caprins et 18 mois chez les ovins) [11]. La vaccination doit être associée au dépistage et à l'élimination des animaux infectés pour conduire à une éradication de la maladie.

I. Objectif

L'objective de notre enquête consiste à évaluer la situation épidémiologique de la brucellose ovine à travers une enquête sérologique dans les élevages ovins et les abattoirs dans la région de Médéa

II. Zone et période d'étude

La période de notre étude est réalisée dans la période allant du mois de Décembre 2016 jusqu'au mois de Mai 2017 dans la wilaya de Médéa qui est située au Nord de l'Algérie, le Chef lieu de la wilaya est située à 88 km à l'Ouest de la capitale, Alger.

La wilaya de Médéa est limitée par les wilayas suivantes :

- La Wilaya de Blida au Nord.
- La wilaya de Djelfa au Sud.
- Les wilayas d'Ain Defla et Tissemsilt à l'Ouest.
- Les Wilaya de M'sila et Bouira à l'Est.

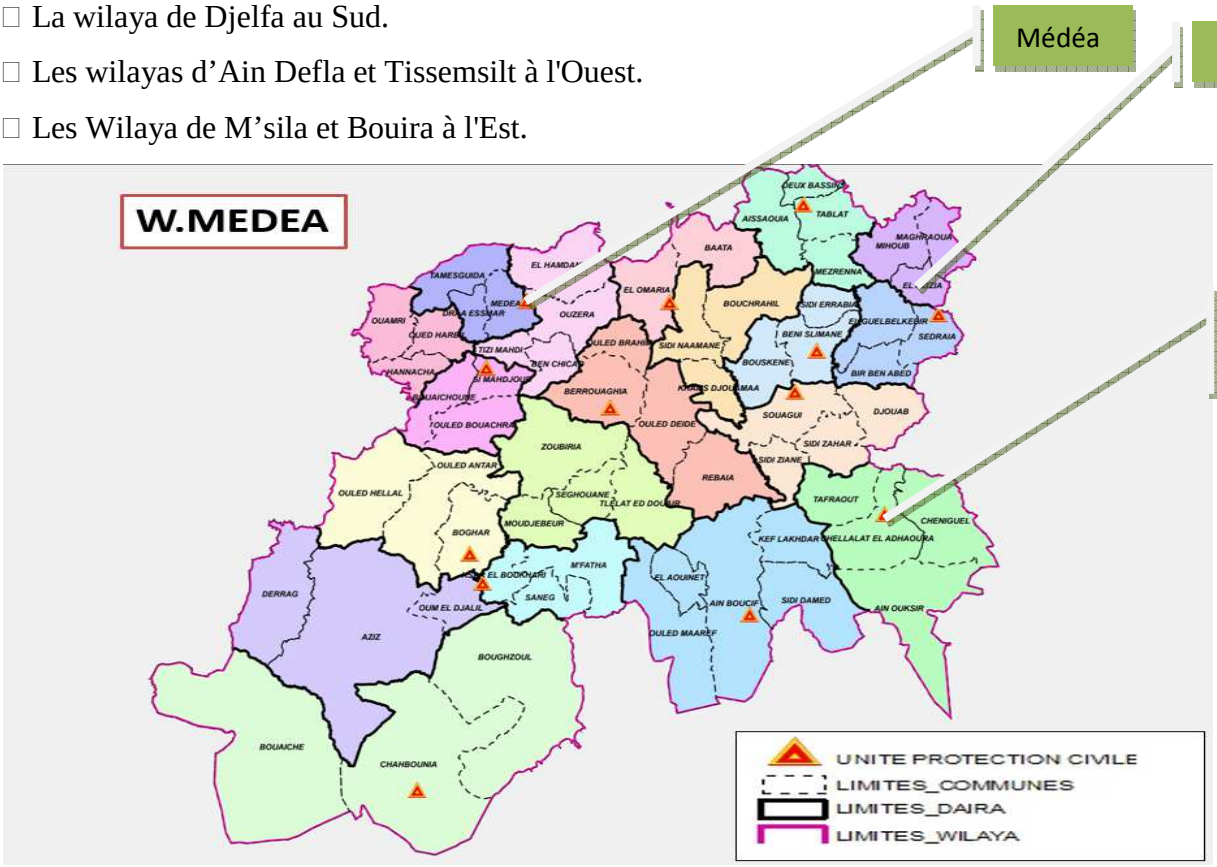


Figure 3 : la carte géographique de la wilaya de Médea.

: lieu de stage

III.Matériels et méthodes

La présente étude est réalisée au niveau des abattoirs et des élevages ovins afin de faire une enquête sérologique sur la brucellose ovine

III.1 choix d'abattoir

Durant notre étude, nous avons choisi l'abattoir de Médéa qui se situe dans le quartier de Bab Laquasse, vu sa capacité d'abattage journalière. Il reçoit chaque jour beaucoup d'ovins de déférentes régions de Médéa et cela nous a aidés à faire notre échantillonnage.

III.2 Choix d'élevages

Grace à l'aide des vétérinaires, nous avons pu visiter plusieurs élevages de déférentes régions de Médéa à statut sérologique inconnu vis-à-vis de la brucellose, parmi ces élevages, on peut citer ceux de la commune de Médéa, Challelt El adoura, El Galb lkbir, Ksar El Boukhari, Barouagia, El Azizia. Le choix des élevages a été fait avec concertation des éleveurs.

III.3 Matériels

III.3.1 Matériel de prélèvement et collecte de sérums

➢ **Matériels de prélèvements**

- Tubes sec de 5 ml.
- Aiguilles stériles.
- Porte-aiguille.
- Portoirs.
- Glacière avec pain de glace.
- Paires de gants.

-Papier hygiénique.

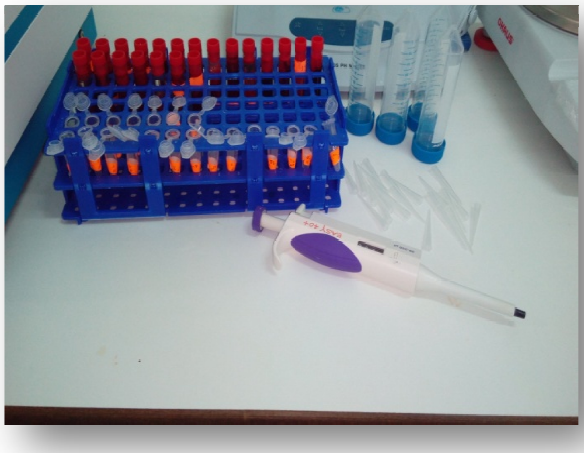


Figure 4 : Matériels pour réaliser les prélèvements (Photo personnelle)

➢ **Matériels de collecte de sérums**

- Tubes eppendorf étiquetés.

- Micropipette de précision.
- Embouts à usage unique.
- Portoirs.
- Congélateur.
- Centrifugeuse.



Figure 5 : Matériels pour la collection de sérum (photo personnelle)

III.3.2 Matériels pour les tests sérologiques

- Un antigène coloré au rose Bengal.
- Une plaque blanche de faïence.
- Des baguettes fines en bois.
- Des embouts à usage unique.
- Micropipette de précision.



Figure 6: Matériels pour réaliser le test au RBT.(photo personnel).

III.4. Méthodes

III.4.1. Echantillonnages

L'échantillonnage de notre étude a été fait au niveau d'abattoir et des élevages de Médéa d'une façon aléatoire, c'est-à-dire on ne tient pas compte des catégories d'âge et de sexes des ovins prélevés.

Des prélèvements sanguins au nombre de 200 échantillons de tout âge et des deux sexes étaient effectués, 130 échantillons au niveau de l'abattoir et 70 au niveau des élevages ovins.

III.4.2 prélèvements

Au niveau de l'abattoir de Médea, nous avons fait les prélèvements sanguins après l'abattage de l'animal, en utilisant des tubes secs de 5 ml ; au niveau des élevages, les prélèvements ont été effectués à l'aide d'une aiguille à usage unique au niveau de la veine jugulaire de l'animal.

Nous avons étiqueté tous les tubes de prélèvements sanguins, en donnant un nombre à chaque prélèvement, et des fiches contenant l'âge, le sexe et la région de chaque animal ont accompagné nos échantillons. Ces tubes sont transportés au laboratoire dans une glacière au froid (pour la bonne conservation de sang) afin de faire la collection des sérums.

III.4.3 collecte de sérums

Au niveau de laboratoire de la faculté de biologie nous avons fait la collection de sérums à l'aide d'une centrifugeuse à 4000 rpm pendant 10 min.

Après la centrifugation de sang nous avons récupéré le sérum par une micropipette de 20 à 200 µl et récolté dans des tubes eppendorfs étiquetés, ensuite, l'ensemble des eppendorfs sont conservés dans un sachet dans le congélateur à -20 °C.

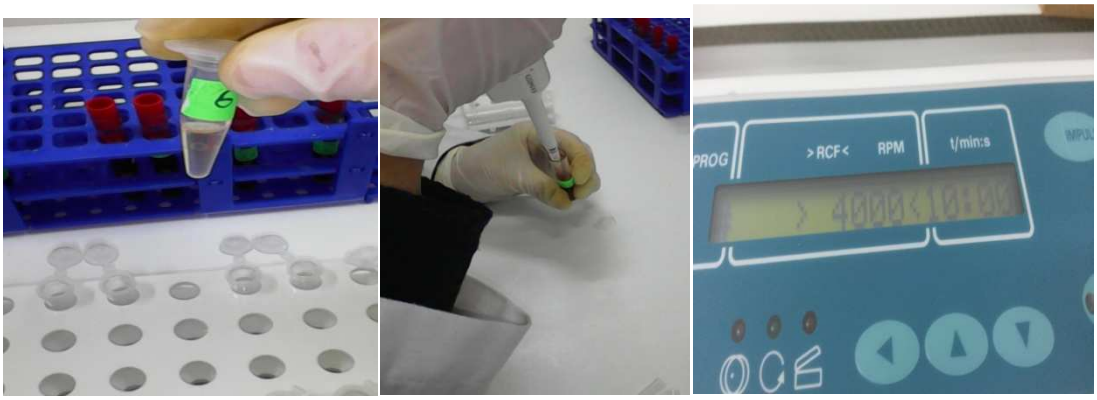


Figure 7 : matériels pour la collection de sérum (photo personnelle).

III.4.3 Epreuve à l'antigène tamponné

Notre test sérologique est fait à l'aide d'un antigène coloré par le rose Bangal afin de détecter les anticorps dirigés contre *Brucella.*

.Le test au rose Bengal (RBT) :

C'est un test qualitatif sur du sérum, rapide, simple et économique [59] largement utilisé, qui se base sur le principe d'agglutination sur lame en milieu tamponné (pH=3,6 pour éliminer les agglutinations non spécifiques). Des réactions négatives par défaut sont rares et sont souvent liées à un phénomène de zone, aisément mis en évidence en diluant le sérum avant épreuve ou en testant de nouveau l'animal plus tard.

Cette technique est prescrite pour le dépistage des troupeaux et des animaux individuels car réputée très spécifique (Se>95%) et sensible (Sp>90%) [60].

Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*melitensis, suis, abortus)* sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 ±0,05). Le tampon acide permet d'augmenter la spécificité car l'activité agglutinante des immunoglobulines G augmente en pH. C'est l'une des méthodes les plus faciles à mettre en œuvre et la plus largement utilisée pour la mise en évidence des anticorps brucelliques dans les sérums.

L'antigène et le sérum à analyser sont mélangés à volumes égaux, et après 4 minutes de contact, la présence d'anticorps se traduit par la formation d'agglutinants visibles à l'œil nu. Si il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le mélange reste homogène [44].

Le mode opératoire est le suivant :

- Placer l'antigène et les sérums à température ambiante (18-23°C), 30 à 60 minutes avant le début du test
- Sur une plaque, déposer 30 µL de chacun des sérums à tester
- Agiter doucement le flacon d'antigène
- Déposer 30 µL d'antigène coloré à côté de chacun des sérums
- Mélanger soigneusement l'antigène et le sérum
- Agiter la plaque pendant quatre minutes exactement et lire immédiatement

Il est préférable d'avoir un témoin positif (sérum infecté) et un témoin négatif.

Pour l'interprétation, une absence d'agglutination signifie qu'il n'y a pas d'anticorps dans le sérum, tandis que l'existence d'une agglutination, aussi minime soit elle, signale la présence d'anticorps anti-*Brucella*.

Ce test est très sensible, en particulier chez les animaux vaccinés. En effet, le vaccin peut provoquer une forte réponse en anticorps, et interférer alors avec les tests sérologiques.

Des faux négatifs peuvent apparaître, et seront détectés en renouvelant le test à au moins trois mois d'intervalle.

Simple et rapide, ce test est donc surtout utilisé en dépistage. Une fixation du complément ou une ELISA sont ensuite nécessaires pour confirmer les positifs ou douteux.
Pour les petits ruminants, c'est le test le plus utilisé en dépistage, avec une sensibilité de 90 % et une détection des anticorps plus précoce que pour la fixation du complément.
Cependant, la sensibilité de ce test peut beaucoup varier en fonction de la situation épidémiologique de la maladie [44].

Pour analyser nos sérums, nous avons suivi la méthode du test au rose Bengal modifié **(Oie, 2016)**:

- Les sérums sont laissés à température ambiante (la température de laboratoire) pour leur décongélation.
- On a divisé la plaque de faïence à 20 carrés numérotées.
- Dans chaque carrée on a disposé 75µl de sérum à l'aide d'une micropipette de précision.
- 25µl de l'antigène tamponné est déposé sur le sérum testé.
- Mélangé l'antigène et le sérum à l'aide d'une baguette fine le plus rapidement possible.
- Agiter la plaque manuellement par des mouvements circulaire pendant 4min.
- La lecture se fait à l'œil nue sous la lumière du jour.



Figure 8 : plaques de manipulation du test RBT (photo personnel)

La lecture

La lecture se fait immédiatement après 4 minutes, aucun résultat n'est pris en considération après avoir dépassé 4 minutes.

- Observation d'une agglutination ⟶ test positive
- Pas d'agglutination ⟶ test négative.

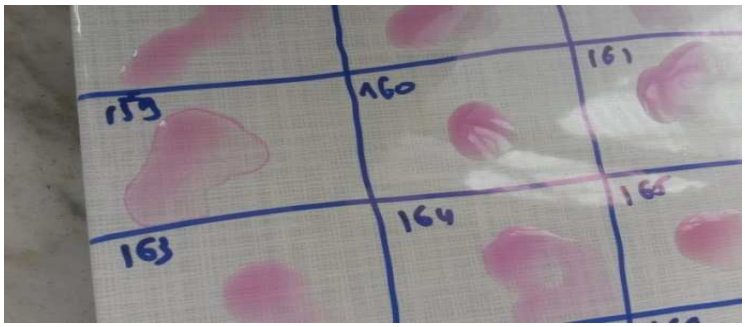


Figure 9: plaque de faïence contenant le sérum et le rose bangal (photo personnel)

L'interprétation des résultats

L'observation d'une agglutination signifie la présence des anticorps dirigés contre *Brucella*, donc il y a une réaction entre l'anticorps et l'antigène utilisé. Pas d'agglutination c'est-à-dire pas de réaction antigène-anticorps.

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats

Sur un nombre de 200 sérums ovins analysés par le RBT, 2 sérums ont été trouvés positifs, donc un taux de positivité de 1%. Les deux cas enregistrés comme étant positifs, étaient du sexe male, cependant, aucune femelle n'a été trouvée séropositive.

		Animaux testés	Animaux tastés(+)	séroprévalence	Test de Chi-2 (p)
sexe	Male	149	2	1,342%	P=0.9 (non significatif)
	Femelle	51	0	0	
L'âge	< à 2 ans	129	1	0,775	P= 0.8 (non significatif)
	De 2 à 5ans	69	1	1,449	
	>à 5 ans	2	0	0	

Tableau 4 : la prévalence de la brucellose selon les caractéristiques des ovins prélevés**.**

Calcul de la séroprévalence

$$\text{la séroprévalence} = \frac{\text{le nombre des cas positives}}{\text{le nombre total}} \times 100$$

$$\text{la séroprévalence} = \frac{2}{149} \times 100 = 1{,}342$$

IV.1.1 Test de chi deux

Le teste de chi deux (Chi2) permis de comparé la distribution observé par rapport une distribution théoriques .l'hypothèse nulle consiste à supposer que ces deux distributions différent peu si, au contraire la distribution observée diffère sensiblement de ce qu'avait donner le hasard, il faut rejeter l'hypothèse nulle.

Par exemple, le test de chi deux permet de déterminer si les différences entre plusieurs pourcentages trouvées sont significative on pose alors l'hypothèse Ho : il n'y pas de différence significative entre les pourcentages.

En détermine les degrés de liberté régissant chacun de nos valeur, après on cherche dans le tables la valeur du chi deux théoriques pour ce nombre de degrés de liberté. Avec un risque d'erreur approximé à 5%.

La répartition des ovins testés selon le sexe

Sexe	male	femelle
Pourcentage (%)	74%	26%

Tableau 05 : La répartition des ovins testés selon le sexe.

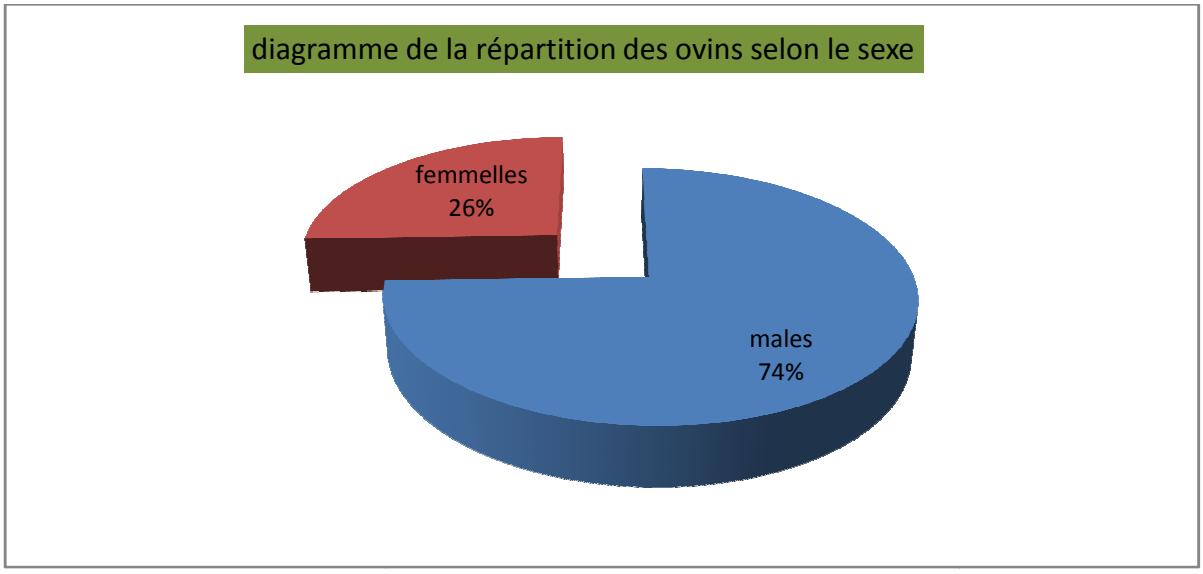


Figure 10 : la répartition des ovins testés selon le sexe.

Selon le diagramme on observe que le nombre des béliers testés est plus grand que le nombre des brebis, dont on a un pourcentage de 74% et 26% chez les males et les femelles respectivement.

La séroprévalence chez les deux sexes

sexe	male	femelle
Prévalence (%)	1,342	0

Tableau 06 : La séroprévalence chez les deux sexes.

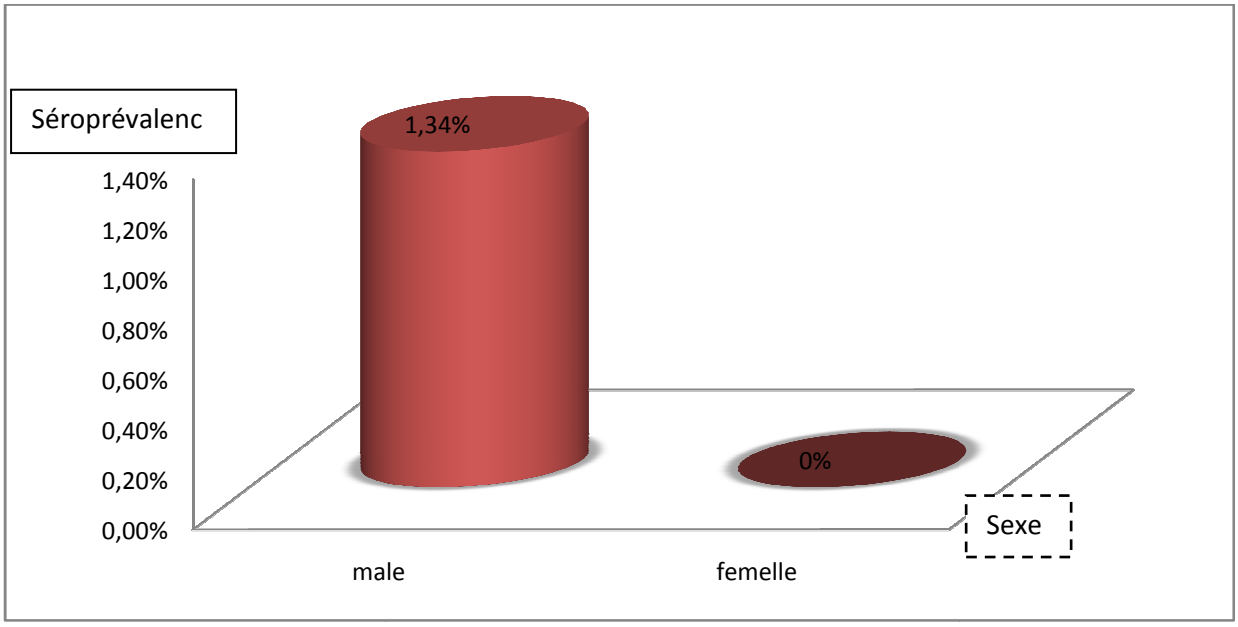


Figure 11 : la séroprévalence chez les males et les femelles

A partir de l'histogramme ci-dessus, on remarque que la séroprévalence est de 1.3 % chez les males et 0% chez les femelles.

Le nombre des animaux testés selon l'âge

L'âge	< 2ans	De 2 à 5 ans	> de 5 ans
Le nombre	129	69	2

Tableau 07 : Le nombre des animaux testés selon l'âge.

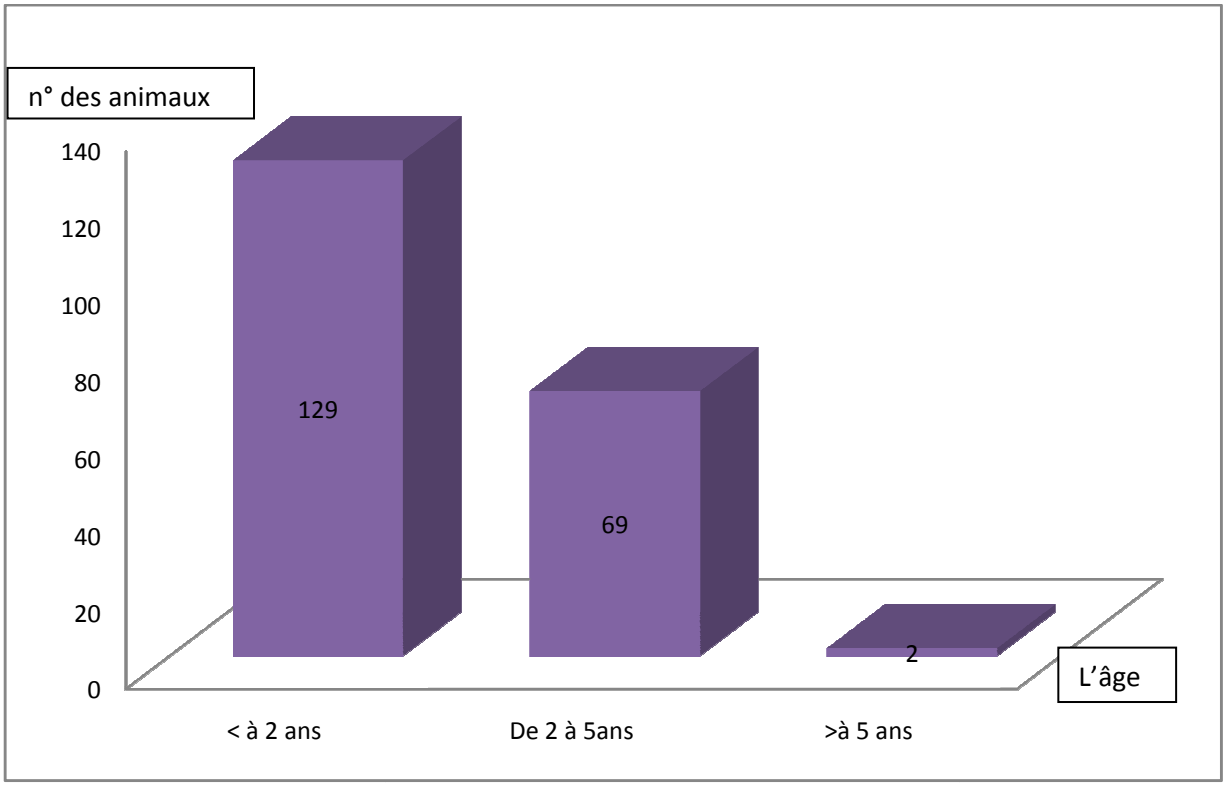


Figure 12 : le nombre des animaux testés selon l'âge.

La catégorie d'âge qui est inferieure à 2 ans est la plus testée par rapport aux deux autres catégories, dont elle est estimée à un nombre de 129 ovins. Cependant les ovins de 2 à 5 ans présentent un nombre de 69 ovins. Uniquement, deux animaux dont l'âge est supérieur à 5 and ont été inclus dans notre étude.

La séroprévalence selon l'âge

L'âge	< 2ans	De 2 à 5 ans	> de 5 ans
Séroprévalence(%)	0,775	1,449	0

Tableau 8 : La séroprévalence selon l'âge

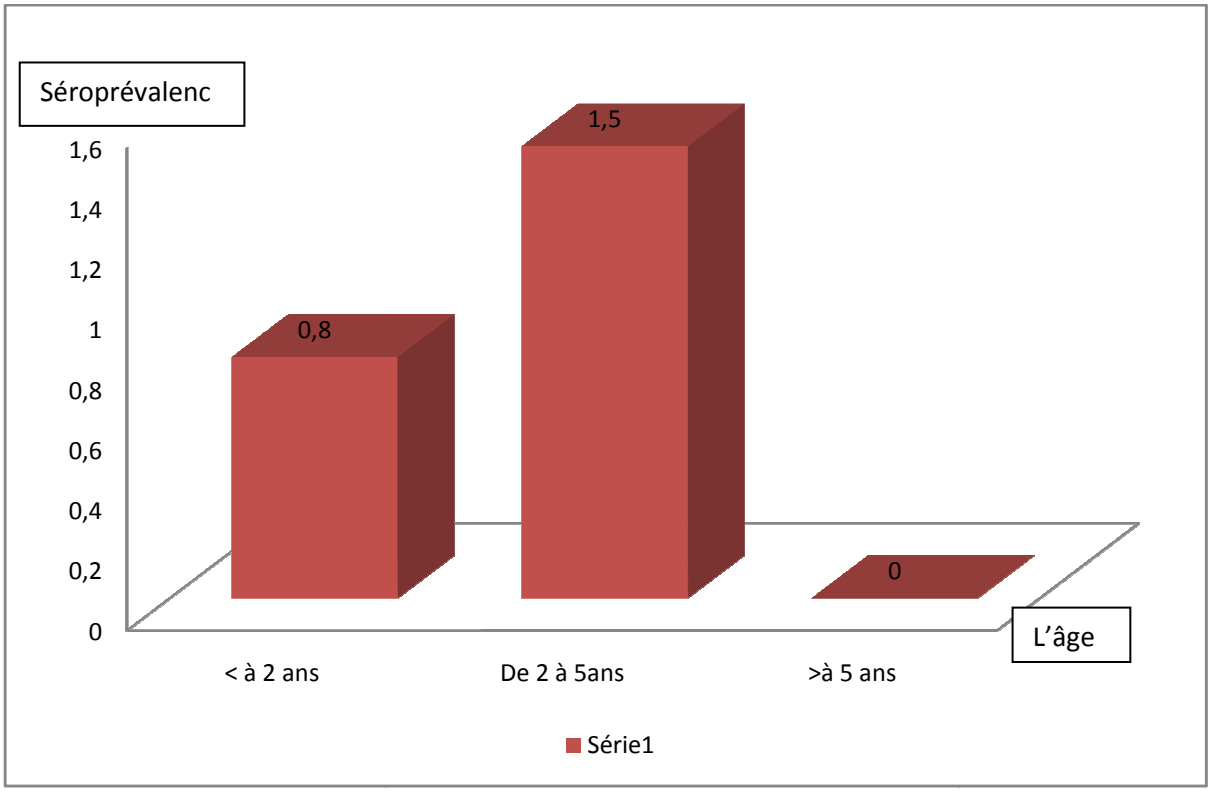


Figure 13: histogramme représente la séroprévalence des ovins testés selon l'âge.

La catégorie des ovins de 2 à 5 ans ayant la séroprévalence la plus élevée que les deux autres catégories, cette catégorie représente un séroprévalence de 0.8% de notre échantillon. Les ovins avec un âge inferieure à 2 ans représentent 1.5% et 0% pour l'âge supérieur à 5 ans.

Résultats en fonction de sexe.

Répartition de l'effectif selon le sexe d'animal.	Nombre.	Nombre de prélèvement positive.
Male	149	2
Femelle	51	0
Chi2	**P=0.9 (non significatif)**	

Tableau 9 : pourcentage des prélèvements positifs selon le sexe de l'animale.

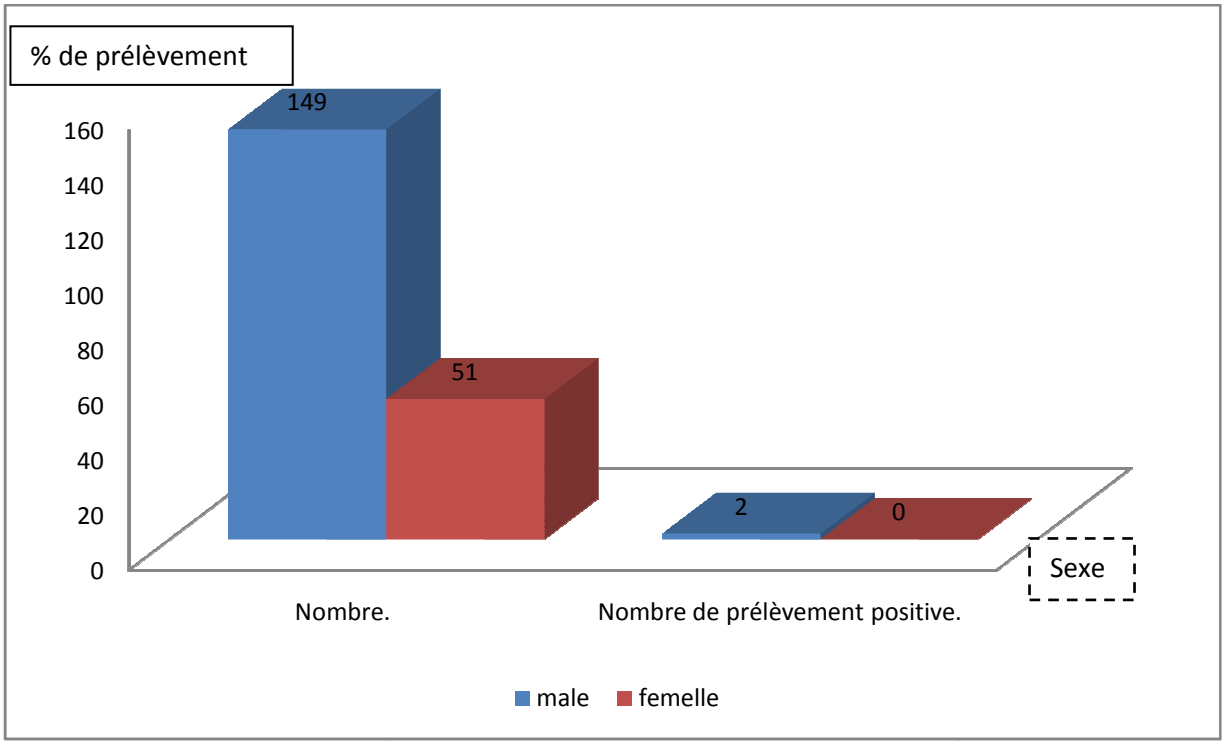


Figure 14 : le pourcentage de prélèvement positif selon le sexe de l'animal.

Sur un total de 100 prélèvements de sérums le pourcentage de la positivité chez les males est estimé de 1,342%, et 0%pour les femelles.

Ces résultats pour le chi2 P=0.9 (non significatif).

Donc le sexe ne représente pas un facteur de risque pour la brucellose chez les ovins.

Résultats en fonction de l'âge :

Répartition de l'effectif selon le sexe l'âge.	Nombre.	Nombre de prélèvement positive.
< à 2 ans	129	1
De 2 à 5 ans	69	1
>à 5 ans	2	0
Chi2	P=0.8 (non significatif)	

Tableau 10 : les résultats en fonction de l'âge

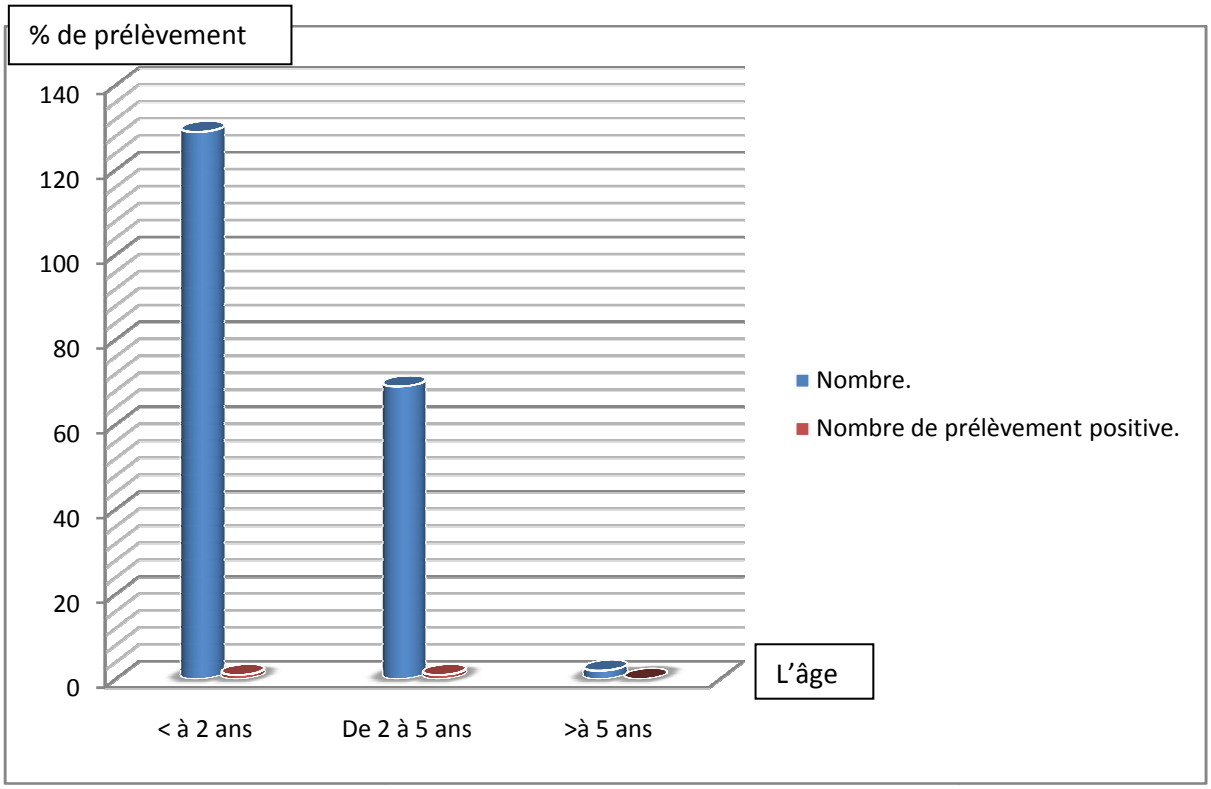


Figure 13 : pourcentage des prélèvements positive selon l'âge

A partir du tableau et le diagramme on montre que la catégorie d'âge qui est inferieure à 2 ans représente une séropositivité plus élevée. Et la catégorie d'âge de 2 à 5 ans représente une séropositivité moyenne, cependant aucune positivité chez la catégorie d'age qui est supérieure à 5ans.

Les résultats par le chi2 P=0.8 donne des résultats non significatifs donc l'âge ne considéré pas comme un facteur de risque.

IV.1.2 Etude statistique :

L'objectif de cette recherche est d'effectuer une analyse épidémiologique rétrospective des cas de brucellose ovine enregistrée au niveau de la direction des services agricoles (DSA) de la Wilaya de Médéa dans une période de six ans (de 2000 à 2005).

Récolte des données

Pour la récolte des données concernant les cas de brucellose ovine enregistrés durant ces six années; nous avons demandés l'aide à la direction des services agricoles (DSA) qui nous a fourni les données suivantes:

- Le nombre de cas ovins atteints de la brucellose par apport les cas dépistés.
- Le nombre des foyers trouvés durant ces six années.

Evolution de la brucellose ovine

L'évolution de l'incidence de la brucellose ovine (nombre de cas annuels) est mentionnée dans le tableauet la figuresi dessus; tandis que la figure A illustre l'évolution du taux d'incidence dans ces six années.

Année	Effectif dépisté	Nombre de foyers	Nombre de cas positifs	Incidence annuelle pour 10^2
2000	222	04	34	1.5
2001	36	00	00	00
2002	234	01	01	0.4
2003	104	02	03	2.8
2004	738	01	29	3.9
2005	505	00	00	00
Total	1839	08	67	8.6

Tableau 5.1 : Évolution de l'incidence de la brucellose ovine dans la wilaya de Médéa de 2000 à 2005.

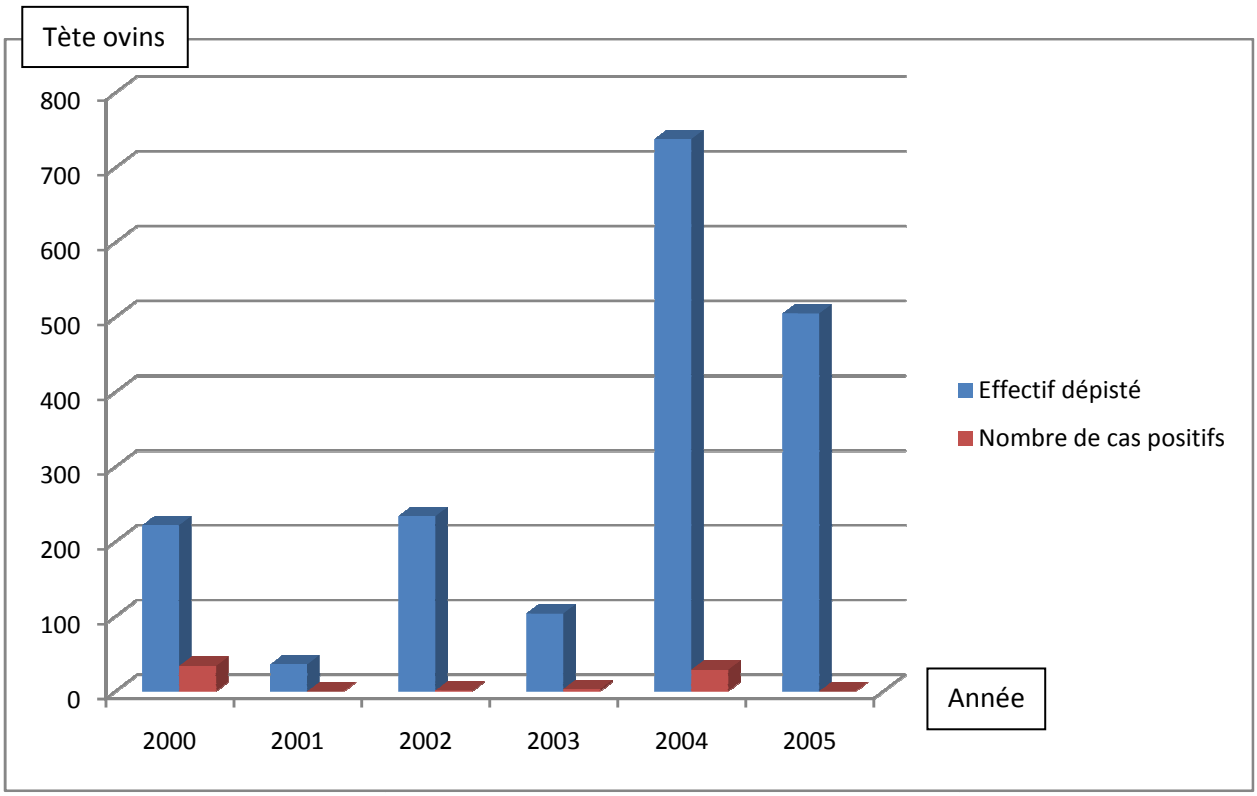


Figure N° 5.1 : Évolution du nombre de cas positifs de la brucellose ovine au niveau de la wilaya de Médéa de 2000 à 2005.

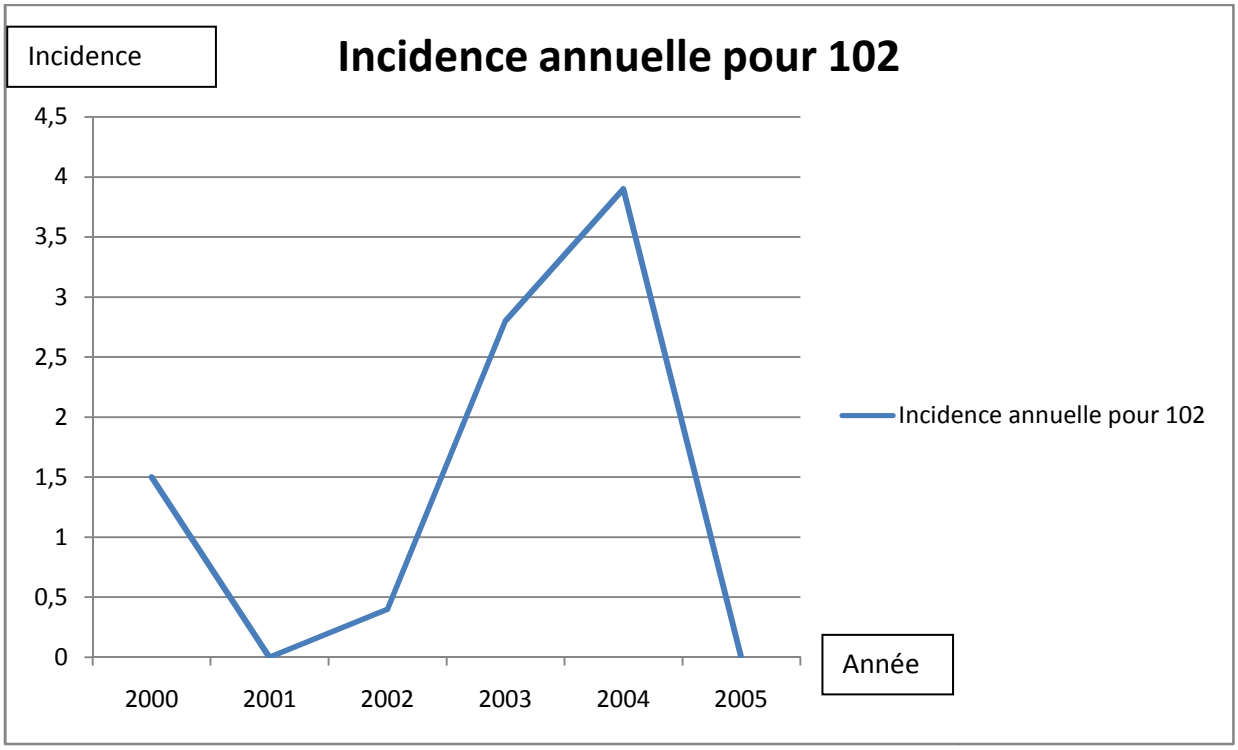


Figure N° 5.2: Évolution de l'incidence de la brucellose ovine à Médéa de 2000 à 2005.

Selon les études qui fait durant ces six années les cas de brucellose ovine enregistrés sont les suivants : aucune cas enregistrée en 2001 et 2005(00 /10^2) tandis que un seul cas et 3 cas sont enregistrées en 2002 et 2003 respectivement (0.4/10^2 et 2.8/10^2) avec un pic remarquable en 2000 par 34 cas (1.5/10^2).

A partir de ces résultats on peut conclure que la brucellose ovine présente un faible taux dans la wilaya de Médéa, donc elle ne représente pas un problème dans la santé publique et cela sont expliqués par les efforts et les stratégies de lutte suivi par l'état

IV.2. Discussion

IV.2.1 Echantillonnage et prélèvement

Durant notre étude l'échantillonnage était fait de manière aléatoire par apport l'âge et le sexe, et cela, pour augmenter notre chance de tomber sur des animaux infectés de différentes catégories.

Le nombre totale des ovins prélevés dans les élevages était très faible, c'est peu être a cause de manque d'animaux ou parfois manque de confiance de la part des propriétaires, qui ont refusé de coopérer à maintes reprises.

Durant notre étude, nous avons ciblé différentes régions de la Wilaya de Médea, et cela dans le but d'avoir une idée globale sur la brucellose ovins dans ces différentes régions.

Durant la réalisation des prélèvements, ainsi que les différentes manipulations réalisées, nous avons respecté les règle d'hygiène, ainsi que les règles de la conservation ou froid tout ou long de notre enquête, du l'cheminement des échantillons de l'abattoir et les élevages au laboratoire, où nous avons collectés les sérums.

IV.2.2 La collection de sérum

La centrifugation de sang était fait ou niveau de laboratoire de la faculté de biologie où nous avons utilisé une centrifugeuse qui à 4000 rpm pendant 10 min, cette valeur était largement suffisante pour une meilleure séparation des sérums.

IV.2.3 Le teste de diagnostique utilisé

Il existe différents testes de diagnostique de la brucellose (fixation de complément (FC), rose bangal test(RBT), sérodiagnostic de Wright, ELISA…..), parmi ces tests, nous avons choisi le RBT parce qu'il est disponible pour nous, plus rapide, moins chère et sensible

La séroprévalence que nous avons trouvé sur la brucellose reste des estimations, et cela peut être expliqué par la nature du test utilisé, qui peut ne pas être fiable à 100% dans certaines situations, en passant à coté des animaux infectés par la brucellose. Par ailleurs, d'après Garin –Batiji, la spécificité du teste de rose Bengale est estimée aux alentours de 99.95% dans toute situation, mais sa sensibilité de 70-80% au moyenne, dépend notamment de la situation épidémiologique de la brucellose

En générale, la séroprévalence de la brucellose diffère d'un pays à l'autre, au sein même des troupeaux ou entre les troupeaux différents, entre les différentes espèces animales et à travers les zones géographiques et les systèmes de productions animales [61, 62, 63,64].
Cependant, des anticorps contre la brucellose ont été signalés précédemment chez les populations animales et des être humains au soudan [65, 66, 67].

Dans notre étude la séroprévalence de la brucellose ovine dans la wilaya de Médea estimée par le RBT à 1% (2/200), elle est presque d'accord avec cadmus et al chez les ovins au Niger 0,0% : 0/54) et Rahman et al chez les ovins de Bangladesh (1,3%). En outre elle est supérieure à ceux qui ont été trouvés par les rapports d'Omer et al. chez l'ovin au soudan, ces prévalences sont 0,10% et 0,4% dans une période de 3ans de 2004 à 2006, d'autre part le pourcentage de la séropositivité de notre étude au rose Bengal était plus inferieure à qui a déclaré en Egypte de 26,7%, 12,2% et 29,3% par Kaoud et al., Hegazy et al. (12) et Abdel Hafez et al. (1), en Iran de 4,2% par Akbarmaher et Ghiyamirad , au Nigeria de 14,5 par Bestu et al., en Ethiopie de 5,6%, 3,2% et 3,6% par Teshale et al., Ashenafi et al , et Nigatu et al.

Les résultats de notre étude était également plus inferieure à ceux qui sont trouvée au West d'Algérie dont la séroprévalence est estimé de 27% à Saida ; 23% à Tlemcen ; 18,4% à Sidi Bellabes ; 12,9% à Tiaret selon l'étude de Maghdouri Khaldi N1., Tir touil A1., El Kebir Ahmed2, Bendahmane M3 dans la période de 2002 à 2014.

Ces différences observées dans les pourcentages de séropositivité RBT peuvent être expliquées par les déférences dans les tailles d'échantillon testé (n) dans chaque étude, les différences dans les systèmes de production animale et l'élevage et les différences entre les régions géographiques et les paramètres écologiques et même les conditions sanitaires des troupeaux. En outre les résultats de notre étude montrée que l'âge et le sexe n'ayant pas effet sur la positivité des résultats au rose bangal test.

Conclusion :

L’objectif de ce travail était de réaliser un dépistage sérologique vis-à-vis de la brucellose ovine au niveau des abattoirs et des élevages de la wilaya de Médéa et le calcul de la séroprévalence en fonction de l’âge et du sexe de l’animal.

Au vu des résultats sérologiques trouvés dans notre étude, en l’occurrence le taux de séropositivité de 1% (2/200), on peut conclure que le cheptel ovin de la Wilaya de Médéa est faiblement contaminé par la brucellose.

Un taux de 1,3 % a été trouvé chez les mâles, alors qu’aucun cas n’a été enregistré chez les femelles ; quant à l’âge des animaux testés, les ovins trouvés séropositifs avaient un âge entre 2 et 5ans.

La prévalence faible de la brucellose ovine trouvée dans notre étude, explique l’efficacité et le fruit du système de vaccination de masse lancé y’a 11 ans. Par conséquent, la brucellose ovine peut ne représenter un problème important pour la santé publique. Néanmoins, d’autres enquêtes plus élargies à d’autres régions de la Wilaya de Médéa, sont nécessaires à fin d’avoir une image claire et complète sur la brucellose chez cette espèce animale.

L'emploi des épreuves sérologiques améliore le dépistage et permet d'accéder plus rapidement à l'éradication. Le contrôle, la gestion et l’élimination de la maladie à cette faible prévalence devrait également être prioritaire car il ne prendra qu’un petit effort et coûtera moins chère.

Donc, notre étude suggère un système de vaccination accompagnée par une meilleure surveillance ainsi que des bonnes pratiques dans la conduite générale des élevages pour éviter la contamination entre les cheptels.

Recommandation

Au niveau des élevages

- Identifier les animaux pour un meilleur suivi zootechnique.
- Appliquer la quartenaire et la dépistage des animaux nouvellement introduits.
- Séparer les différentes espèces animales.
- Isoler les femelles avortées du reste troupeau.
- Déclarer au minimum les avortements en série au service vétérinaire.
- Eviter le brassage de troupeaux
- Améliorer les conditions du logement d'hygiène et alimentation

Au niveau des services vétérinaires

- Réaliser une surveillance sérologique régulière sur les troupeaux sentinelle non vaccinés.
- Inciter les éleveurs à la déclaration de l'avortement par un programme d'administration.
- Sensibiliser les éleveurs et la population rurale sur l'importance de la zoonose et spécifiquement sur la brucellose.
- Favoriser une meilleure collaboration entre le vétérinaire et médecin.
- Appliquer rigoureusement le programme de prophylaxie adopté dans la région vaccination

Au niveau du vétérinaire praticien

-Informer l'éleveur sur le danger s et la conduite à tenir devant un avortement

-Faire la déclaration d'avortement.

-Faire un diagnostic étiologie dans les plus brefs delais.

Annexe 01 :

- Fiche de prélèvement

num	sèxe	l'age	région	RBT
1	M	1 ans	Ksar Boukh	N
2	M	2 ans	Ksar Boukh	N
3	M	6 mois	Ksar Boukh	N
4	M	1 ans	Ksar Boukh	N
5	M	1,5 ans	Ksar Boukh	N
6	M	1,5 ans	Medea	N
7	M	9 mois	Ksar Boukh	N
8	M	1 ans	Ksar Boukh	N
9	M	9 mois	Medea	N
10	M	8 mois	Ksar Boukh	N
11	M	10 mois	Medea	N
12	M	7 mois	Medea	N
13	M	8 mois	Medea	N
14	M	1 ans	Medea	N
15	M	6 mois	Medea	N
16	M	1 ans	Ksar Boukh	N
17	M	6 mois	Ksar Boukh	N
18	M	5 ans	Ksar Boukh	N
19	F	1 ans	Berougia	N
20	M	6 mois	Ksar Boukh	N
21	M	9 mois	Medea	N
22	M	10 mois	Berougia	N
23	M	1 ans	Ksar Boukh	N
24	M	1 ans	Ksar Boukh	N
25	M	1 ans	Medea	N
26	M	9 mois	Medea	N
27	M	7 mois	Ksar Boukh	N
28	F	4 mois	Ksar Boukh	N
29	M	9 mois	Ksar Boukh	N
30	M	9mois	Medea	N
31	M	8 mois	Ksar Boukh	N
32	M	6 mois	Ksar Boukh	N
33	M	9 mois	Medea	N
34	F	5 ans	Ksar Boukh	N
35	M	8 mois	Ksar Boukh	N
36	M	1,5 ans	Ksar Boukh	N
37	M	9 mois	Ksar Boukh	N
38	M	7 mois	Medea	P
39	M	9 mois	Medea	N
40	M	8 mois	Ksar Boukh	N
41	M	7 mois	Ksar Boukh	N
42	M	8 mois	Ksar Boukh	N

43	M	7 mois	Ksar Boukh	N
44	M	1 ans	Berougia	N
45	M	6 mois	Berougia	N
46	F	3 ans	Berougia	N
47	M	1,5 ans	Berougia	N
48	M	7 mois	Berougia	N
49	M	1 ans	Berougia	N
50	M	14 mois	Medea	N
51	M	9 mois	Medea	N
52	M	4 ans	Medea	N
53	M	8 mois	Ksar Boukh	N
54	M	1 ans	Ksar Boukh	N
55	F	2,5 ans	Medea	N
56	M	7 mois	Ksar Boukh	N
57	M	3,5 ans	Medea	N
58	M	15 mois	Medea	N
59	F	4 ans	Medea	N
60	F	3,5 ans	Medea	N
61	M	14 mois	Medea	N
62	M	18 mois	Medea	N
63	F	12 mois	Berougia	N
64	F	15 mois	Berougia	N
65	M	18 mois	Berougia	N
66	F	22 mois	Berougia	N
67	M	7 mois	Medea	N
68	M	11 mois	Medea	N
69	M	9 mois	Medea	N
70	M	2,5 ans	Berougia	N
71	M	5 ans	Medea	N
72	M	8 mois	Berougia	N
73	M	12 mois	Berougia	N
74	F	4 ans	Berougia	N
75	M	8 mois	Berougia	N
76	M	4 mois	Berougia	N
77	M	7 mois	Berougia	N
78	M	5 mois	Medea	N
79	M	6mois	Medea	N
80	M	6 mois	Medea	N
81	M	4 mois	Ksar Boukh	N
82	M	10 mois	Ksar Boukh	N
83	F	2 ans	Ksar Boukh	N
84	M	2 ans	Ksar Boukh	N
85	M	1 ans	Ksar Boukh	N
86	M	18 mois	Medea	N
87	M	15 mois	Medea	N
88	M	2 ans	Medea	N

89	M	10 mois	Medea	N
90	M	7 mois	Medea	N
91	M	15 mois	Berougia	N
92	M	9 mois	Berougia	N
93	M	10 mois	Berougia	N
94	M	2 ans	Berougia	N
95	F	4 ans	Berougia	N
96	M	2 ans	Berougia	N
97	M	2 ans	Berougia	N
98	F	5 ans	Berougia	N
99	M	18 mois	Berougia	N
100	M	2 ans	Ksar Boukh	N
101	M	9 mois	Medea	N
102	M	7 mois	Ksar Boukh	N
103	M	15 mois	Medea	N
104	M	1 ans	Medea	N
105	M	16 mois	Ksar Boukh	N
106	M	14 mois	Ksar Boukh	N
107	M	8 mois	Ksar Boukh	N
108	M	15 mois	Ksar Boukh	N
109	M	1,5 ans	Medea	N
110	F	18 mois	Medea	N
111	M	9 mois	Berougia	N
112	M	6 mois	Berougia	N
113	M	18 mois	Berougia	N
114	M	1 ans	Azizia	N
115	F	4 ans	Azizia	N
116	F	2 ans	Azizia	N
117	F	2 ans	Azizia	N
118	M	18 mois	Azizia	N
119	M	9 mois	Azizia	N
120	M	3 ans	Azizia	N
121	F	3 ans	Azizia	N
122	M	14 mois	Azizia	N
123	M	1 ans	Azizia	N
124	M	7 mois	Azizia	N
125	M	16 mois	Azizia	N
126	F	18 mois	Medea	N
127	M	11 mois	Medea	N
128	M	8 mois	Medea	N
129	M	4 ans	Medea	N
130	M	7 mois	Ksar Boukh	N
131	M	9 mois	Ksar Boukh	N
132	F	15 mois	Ksar Boukh	N
133		2 ans	Ksar Boukh	N
134	M	2,5 ans	Ksar Boukh	N

135	M	4 mois	Ksar Boukh	N
136	M	1 ans	Ksar Boukh	N
137	M	3 ans	Medea	N
138	M	6 mois	Medea	N
139	M	15 mois	Ksar Boukh	N
140	M	7 mois	Ksar Boukh	N
141	F	5 ans	Ksar Boukh	N
142	M	1 ans	Ksar Boukh	N
143	M	15 mois	Ksar Boukh	N
144	M	6 mois	Ksar Boukh	N
145	F	4 ans	Ksar Boukh	N
146	F	3 ans	Ksar Boukh	N
147	M	7 mois	Ksar Boukh	N
148	M	8 mois	Medea	N
149	M	7 mois	Medea	N
150	M	18 mois	Medea	N
151	M	1 ans	Medea	N
152	M	2 ans	Medea	N
153	F	2 ans	Berougia	N
154	M	6 mois	Berougia	N
155	M	4 ans	Berougia	N
156	F	4 ans	Medea	N
157	M	9 mois	Medea	N
158	F	5 ans	Medea	P
159	M	3 ans	Medea	N
160	F	3 ans	Medea	N
161	M	4 ans	Medea	N
162	M	6 mois	Ksar Boukh	N
163	M	18 mois	Ksar Boukh	N
164	M	2 ans	Ksar Boukh	N
165	M	7 mois	Ksar Boukh	N
166	M	11 mois	Ksar Boukh	N
167	F	3 ans	Galb Kbir	N
168	F	4 ans	Galb Kbir	N
169	M	1 ans	Galb Kbir	N
170	M	15 mois	Galb Kbir	N
171	M	9 mois	Galb Kbir	N
172	M	4 ans	Galb Kbir	N
173	M	2,5 ans	Galb Kbir	N
174	M	15 mois	Galb Kbir	N
175	M	8 mois	Galb Kbir	N
176	M	11 mois	Galb Kbir	N
177	F	3 ans	Galb Kbir	N
178	F	2 ans	Galb Kbir	N
179	F	4 ans	Galb Kbir	N
180	M	4 ans	Galb Kbir	N

181	F	5 ans	Galb Kbir	N
182	F	6 ans	Chelala	N
183	F	4 ans	Chelala	N
184	F	4 ans	Chelala	N
185	F	3 ans	Chelala	N
186	F	5 ans	Chelala	N
187	F	6 ans	Chelala	N
188	F	6 ans	Chelala	N
189	F	4 ans	Chelala	N
190	F	3 ans	Chelala	N
191	F	5 ans	Chelala	N
192	F	2 ans	Chelala	N
193	M	4 ans	Chelala	N
194	M	5 ans	Chelala	N
195	F	5 ans	Chelala	N
196	F	2 ans	Chelala	N
197	F	2 ans	Chelala	N
198	F	4 ans	Chelala	N
199	F	2 ans	Chelala	N
200	F	3 ans	Chelala	N