

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

**UNIVERSITE Ibn Khaldoun DE TIARET**  
**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**  
**DEPARTEMENT DE Sante animale**

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

**SOUS LE THEME**

# **DIAGNOSTIQUE DE LA BRUCELLOSE CHEZ LES RUMINANTS**

**Présenté PAR:**

MR HAMIDA YESIN  
MR ASLI OUSSAMA

**ENCADRE PAR:**

DR CHIKAOUI MIRA  
DR HAMIDA HOUARI



# REMERCIEMENT

---

LOUANGE A ALLAH L'OMNISCIENT ET OMNIPOTENT

IL N'EST AGRÉABLE D'EXPRIMÉ MON INDÉFECTIBLE RECONNAISSANCE  
TÉMOIGNER MA GRATITUDE A MON ENCADREUR ENTREPRENANT **DR  
HAMIDA HOUARI.**

A BENALOU BOUABDELAH. LE CHEF DÉPARTEMENT QUI A  
TOUJOURS SU VEILLER A CE QU'AUCCUN ÉTUDIANT NE MANQUE DE  
RIEN.

**DR CHIKHOUI MIRA, DR BOUMZREG ASIA ET DR HALOUZ,** JE VOUS  
SUIS AGRÉE DE TOUT, VOTRE SOUTIEN MORAL ET VOS CONSEILS

A TOUT CEUX QUI M'ONT AIDÉE, TOUT LES PROFESSEURS DU  
DÉPARTEMENT VÉTÉRINAIRE TOUT LES ÉTUDIANT VÉTÉRINAIRE

A VOUS TOUS MERCI.

# DÉDICACE

---

JE TIENS À DÉDIER CE MODESTE TRAVAIL À MA FAMILLE

BIEN SUR EN PREMIER LIEU À TOI PRUNELLE DE MES YEUX GRÂCE À TON  
AMOUR MATERNEL TON SACRIFICE ET TA PIÉTÉ J'AI PU DEVENIR CE QUE JE  
SUIS À TOI TENDRE MÈRE

ENSUITE SAID MON MERVEILLEUX PÈRE RESPONSABLE ET MES FRÈRES.

MANSOUR MOHAMED ET ABDELRAZAK.

FRÈRES ADORE, OUSSAMA, ISMAIL, FETHY, ZINO

ET CHÈRES SCEURS AMEL, ASMAA, ZOHA,

DIEU TE GARDE ET TE PROTÉGÉ MA PETIT RANIA

DR HAMIDA HOUARI IL M'EST INDISPENSABLE D'AJOUTÉ VOTRE NOM À MA  
DÉDICACE EN ÉGARD À VOTRE SOUTIEN MORAL ET VOS CONSEILS

TOUS MES AMIS DJEWED, KADA, GHRISSI, LAZREG, MOHAMED, SADIK, HOCINE,  
ET TOUTE

LA PROMOTION 2014 TOUS CHACUN PAR LEUR NOM.

# Sommaire

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I

<b>01. INTRODUCTION</b> .....	<b>05</b>
<b>02. HISTORIQUE</b> .....	<b>05</b>
<b>03 . MICROBIOLOGIE</b> .....	<b>06</b>
<b>03.1. Classification</b> .....	<b>06</b>
<b>03.2. Espèces</b> .....	<b>06</b>
<b>04. NOMONCLATURE</b> .....	<b>06</b>
<b>05. MORPHOLOGIQUE</b> ...../.....	<b>06</b>
<b>06. CULTURE</b> .....	<b>07</b>
<b>07. SENSIBILITE ET RESISTANC</b> .....	<b>07</b>
<b>08. CARACTERES BIOCHIMIQUE</b> .....	<b>08</b>
<b>09. STRUCTURE ANTIGENIQUE</b> .....	<b>09</b>
<b>10. ACTION DES COLORANTS</b> .....	<b>09</b>
<b>11. ACTION DES BACTERIOPHAGES LYSOTYP</b> .....	<b>10</b>
<b>11. CLASSIFICATION DE HUDDLESON</b> .....	<b>10</b>
<b>13. SYMPTOMES ET MODE D'EVOLUTION DE LA MALADIE CHEZ L'HOMME</b> .....	<b>11</b>
<b>13.1. Formes aigue septicémique</b> .....	<b>11</b>
<b>13.2. Formes inapparente</b> .....	<b>12</b>
<b>13.3. Formes chronique</b> .....	<b>12</b>

### CHAPITREII : **BRUCELLOSE BOVINE**

<b>01. DEFINITION</b> .....	<b>14</b>
<b>02. HISTORIQUE</b> .....	<b>14</b>
<b>03. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE</b> .....	<b>15</b>
<b>04.IMPORTANCE ÉCONOMIQUE</b> .....	<b>15</b>
<b>05. ÉPIDÉMIOLOGIE</b> .....	<b>16</b>
<b>05.1. Espèces animales affectées</b> .....	<b>16</b>
<b>05.2. Sensibilité individuelle</b> .....	<b>16</b>
<b>05.3. Sources et transmission de l'infection</b> .....	<b>16</b>
<b>05.4. Evolution de Sa maladie</b> .....	<b>18</b>
<b>05 .5. Taux de prévalence</b> .....	<b>18</b>
<b>05.6. Facteurs favorisant l'extension de la maladie</b> .....	<b>19</b>
<b>05.7. Réservoir de l'agent pathogène</b> .....	<b>19</b>
<b>06.AGENT PATHOGENE</b> .....	<b>19</b>
<b>06.1. Caractéristiques bactériologiques</b> .....	<b>19</b>
<b>06.2. Taxonomie actuelle</b> .....	<b>20</b>
<b>06.3. Caractéristiques génétiques</b> .....	<b>22</b>

06.4. Résistance.....	22
07.	22
<b>PATHOGENIE.....</b>	
07.1. survie de brucella dans les cellules phagocytaires.....	23
07.2 .résistance naturelle et macrophages.....	24
07.3. survie de brucella dans les cellules non phagocytaires.....	24
08.	26
<b>SYMPTOMES.....</b>	
<b>09.LESIONS.....</b>	27
<b>10. RÉPONSE</b>	<b>28</b>
<b>IMMUNITAIRE .....</b>	
10 .1. Réponse humorale.....	28
10.2. Réponse cellulaire .....	29
<b>11. DIAGNOSTIC.....</b>	<b>30</b>
11.1. Diagnostic clinique et différentiel.....	30
11.2. Diagnostic de laboratoire .....	30
11.2.1. Prélèvements.....	31
11.2.2. Mise en évidence de l'agent pathogène.....	31
11.2.3. Culture et identification .....	31
11.2.4. Amplification en chaîne par polymérase.....	32
11.3. Diagnostic sérologique .....	32
11.3.1. Test d'agglutination sur lame ou test au rose Bengale ou épreuve à l'antigène tamponné .....	33
11.3.2. Réaction de fixation du complément .....	34
11.3.3. Épreuve de l'anneau ou Milk ring test .....	34
11.3.4. ELISA anti-LPS.....	34
11.3.5. Test de polarisation de la fluorescence ou « Fluorescenc polarization assay.....	34
11.3.6. Mise en évidence de l'immunité cellulaire .....	35
<b>12. TRAITEMENT.....</b>	<b>35</b>
<b>13..PROPHYLAXIE .....</b>	<b>35</b>
13.1. Prophylaxie médicale .....	35
13.2. Souche B, abortus strain 19.....	36
13.2.1. Histoire et caractéristiques générales.....	36
13.2.2. le caractère infectieux pour l'homme l'effet abortif.....	37
13.2.3. Mode d'administration, dose et âge de la vaccination.....	37
13.2.4. Efficacité.....	38
13.2.5. interférence dans les épreuves sérologiques.....	39
13.3. Souche 45/20.....	39
13.4.Souche B. abortus RB 51.....	40
13.5.Souche B. suis 2.....	40
13.6. Prophylaxie sanitaire et medico-sanitaire.....	41
13.7. Organisation de lutte.....	41
13.8. Objectif contrôle ou éradication.....	41
<b>14. DEPISTAGE.....</b>	<b>42</b>
<b>15. VALEUR DES EPREUVES SEROLOGIQUES.....</b>	<b>43</b>
15.1. Test de dépistage.....	43
15.2. Test de contrôle.....	44
<b>16. ÉRADICATION DE LA BRUCELLOSE.....</b>	<b>45</b>
<b>17. RECOMMANDATIONS GENERALES.....</b>	<b>45</b>

### CHAPITRE III :

#### **BRUCELLOSE OVINE ET CAPRINE**

<b>01. DEFINITION</b> .....	<b>47</b>
<b>02. HISTORIQUE</b> .....	<b>47</b>
<b>03. IMPORTANCE ÉCONOMIQUE</b> .....	<b>48</b>
<b>04. ÉPIDÉMIOLOGÉE</b> .....	<b>48</b>
<b>04.1. Espèces affectées</b> .....	<b>48</b>
<b>04.2.Sensibilité</b> .....	<b>49</b>
<b>05. AGENT PATHOGENE</b> .....	<b>49</b>
<b>05.1.Morphologie et pouvoir antigénique</b> .....	<b>50</b>
<b>05.2.Culture</b> .....	<b>50</b>
<b>05.3Sources</b> .....	<b>51</b>
<b>05.4Transmission</b> .....	<b>51</b>
<b>05.4.1.La contamination directe</b> .....	<b>51</b>
<b>05.4.2.La contamination indirecte</b> .....	<b>51</b>
<b>05.4.3.La transmission verticale</b> .....	<b>52</b>
<b>05.5.Facteurs favorisant Diffusion de la maladie</b> .....	<b>53</b>
<b>06.. PATHOGÉNIE</b> .....	<b>54</b>
<b>07.. SYMPTÔMES</b> .....	<b>55</b>
<b>08.. LÉSIONS</b> .....	<b>55</b>
<b>08.1.Lésions macroscopiques</b> .....	<b>55</b>
<b>08.2.Lésions microscopiques</b> .....	<b>55</b>
<b>09.RÉPONSE IMMUNITAIRE</b> .....	<b>56</b>
<b>10.DIAGNOSTIC</b> .....	<b>56</b>
<b>10.1.Diagnostic clinique et épidémiologique</b> .....	<b>56</b>
<b>10.2.Diagnostic différentiel</b> .....	<b>56</b>
<b>10.3.diagnostic de laboratoire</b> .....	<b>57</b>
<b>10.4.Diagnostic immunologique</b> .....	<b>58</b>
<b>10.4.1.Recherche des anticorps</b> .....	<b>58</b>
<b>11.PROPHYLAXIE</b> .....	<b>60</b>
<b>11.1.Prophylaxie sanitaire</b> .....	<b>60</b>
<b>11.2.Prophylaxie médicale</b> .....	<b>60</b>

### CHAPITRE IV :

#### ***PARTIE PRATIQUE***

<b>01. Problématique</b> .....	<b>63</b>
<b>02. MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>63</b>
<b>02. 1Matériel</b> .....	<b>63</b>
<b>02.1.1 Animaux</b> .....	<b>63</b>
<b>02.1.2 Matériel de laboratoire</b> .....	<b>63</b>
<b>02. 2 Méthodes</b> .....	<b>64</b>
<b>02.2.1 Questionnaire</b> .....	<b>64</b>
<b>02.2.2 Échantillonnage</b> .....	<b>64</b>

<b>02.2.3</b> Analyse par rose de Bengale (agglutination sur lame).....	<b>64</b>
<b>A.</b> Principe de la méthode.....	<b>64</b>
<b>B.</b> PROCEDURE.....	<b>64</b>
<b>B.1</b> Méthode qualitative.....	<b>64</b>
<b>B.2</b> Méthode semi-quantitative.....	<b>65</b>
<b>C.</b> CALCULS.....	<b>65</b>
<b>D.</b> CONTROLE DE QUALITE.....	<b>65</b>
<b>E.</b> VALEURS DE REFERENCE .....	<b>65</b>
<b>F.</b> CARACTERISTIQUES DE LA METHODE.....	<b>65</b>
<b>G.</b> INTERFÉRENCES.....	<b>66</b>
<b>H.</b> REMARQUES.....	<b>66</b>
<b>I.</b> Signification clinique .....	<b>66</b>
<b>03.</b> Résultats et Discussion.....	<b>67</b>
03.1 Résultats.....	67
<b>03.2</b> Discussion:.....	<b>67</b>
Conclusion.....	<b>68</b>

# ***CHAPITRE***

***I:***



## 1. Introduction :

La brucellose est une maladie zoonotique importante, largement distribuée dans les deux espèces humaines et animales, particulièrement dans le monde en voie de développement. En l'occurrence, la maladie chez l'homme est en grande partie dépendant du réservoir animal et des taux élevés d'infection de brucellose chez les moutons et les chèvres causent habituellement la plus grande incidence de l'infection chez l'homme.

## 2. Historique :

La maladie connue actuellement sous le nom de *brucellose* attira pour la première fois l'attention de médecins militaires britanniques, sous le nom de « **fièvre méditerranéenne** » à Malte, durant la guerre de Crimée, dans les années **1850**. En **1887** David Bruce établit la relation causale entre le micro-organisme et la maladie, en isolant la bactérie à partir de la rate de plusieurs civils et soldats décédés. En **1893**, le germe reçut le nom de *Micrococcus melitensis*.

En **1897** le médecin vétérinaire **danois Bernhard Lauritz Frederik Bang** isole la bactérie *Brucella abortusbovis* responsable de la brucellose bovine et d'une forme de brucellose humaine appelée « **fièvre ondulante de Bang** » ou « **maladie de Bang** ».

La même année, la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum des malades fut démontrée par **Almroth Wright**. En **1905** **Themistocles Zammit**, en voulant étudier la maladie sur le modèle animal de la chèvre à Malte, découvrit qu'elles étaient toutes positives au test de **Wright** et que la brucellose était donc une anthroponose. Dans le courant du siècle dernier, le **Dr Jullienne Joyeuse** a travaillé pendant plusieurs années sur la maladie. Il publia en **1933** dans la revue médicale "**Paris médical**" un article intitulé "**Brucellose et Tuberculose**" faisant le point sur la recherche et les traitements disponibles. Ses recherches sont récompensées en **1934** par la médaille de l'Académie nationale de médecine à qui il adresse la même année un article de 19 pages intitulé « **Le Centre de traitement de la fièvre ondulante de Joyeuse** » (**Largentière, Mazel – 1934**). Le **4 mai 1935**, il organise et participe en tant que l'un des meilleurs spécialistes dans le domaine au 1<sup>er</sup>

congrès de recherche sur la Brucellose chez l'homme et l'animal qui se déroule à Avignon. Il mit au point l'un des premiers vaccins curatifs disponible sur le marché le **Paronduline**, commercialisé par les Laboratoires **Ducatte**.

### 3. Microbiologie :

#### 3.1 Classification :

Règne : *PROCARYOTES*

Division : *GRACILICUTES*

Famille : *PARVOBACTERIACEAE*

Genre : *Brucella*

#### 3.2 Espèces:

- *Brucella abortus* (neuf biotypes, ces bactéries sont classées dans le groupe 3 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).
- *Brucella canis* (cette bactérie est classée dans le groupe 3 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).
- *Brucella melitensis* (trois biotypes, appartient au groupe 3 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).
- *Brucella neotomae* (appartient au groupe 1 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).
- *Brucella ovis* (cette bactérie appartient au groupe 1 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).
- *Brucella suis* (quatre biotypes, ces bactéries sont classées dans le groupe 3 de l'arrêté du **18 juillet 1994**).

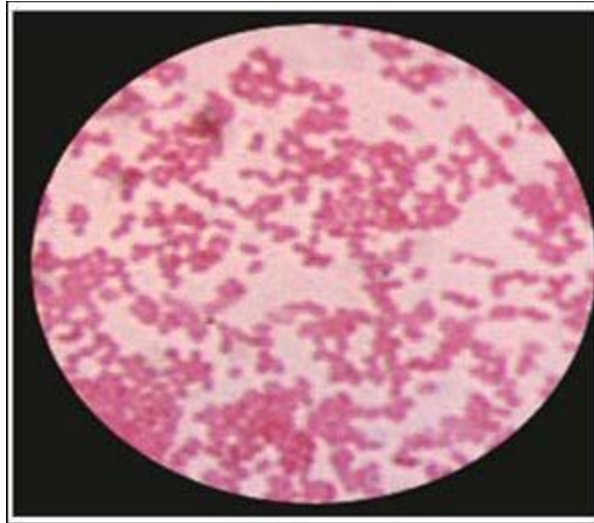
### 4. Nomenclature :

Tableau 1 : Nomenclature de l'espèce brucella (LAMBIN et GERMAN, 1969)

Embranchement	Shizomycètes
Sous-embranchement	Eubactériae
Ordre	Bacteriales
Famille	Brucellaceae
Genre	Brucella
Espèces	Abortus Bovis Melitensis Ovis Suis Canis Néotomae

### 5. Morphologie :

Ce sont des coques, coccobacilles ou courts bacilles de 0.5 - 0.7 mm x 0.6 - 1.5 mm, **GRAM** - Ils sont non mobiles Les bactéries sont non encapsulées et non sporulées.



**Figure1 : Coloration de Gram de Brucella (coccobacilles à Gram négatif)**

### 6. Culture :

La culture est difficile sur un milieu ordinaire. Il faut utiliser des milieux enrichis. Un milieu aérobie strict est nécessaire. La croissance est favorisée par une atmosphère enrichie en **CO<sub>2</sub>** et par des facteurs de croissance présents dans le sang ou le sérum. Le métabolisme est oxydatif. Leur mise en culture laisse apparaître 2 types de souches : les colonies **S** et **R**.

### 7. Sensibilité et résistance :

Ces bactéries sont sensibles à la chaleur et à l'action de la lumière et des **U.V** et sont inactivées à **pH** bas. La bactérie est très résistante dans le milieu extérieur *Brucella* résiste à la décoloration par les acides faibles (colorations de **Stamp** et **Machiavello**) Elle survit de quelques jours à quelques mois dans le milieu extérieur (locaux, abris d'élevage, sols, murs, matériel, litière) à température ordinaire. Dans le lisier, elle peut survivre de **7 à 8** mois.

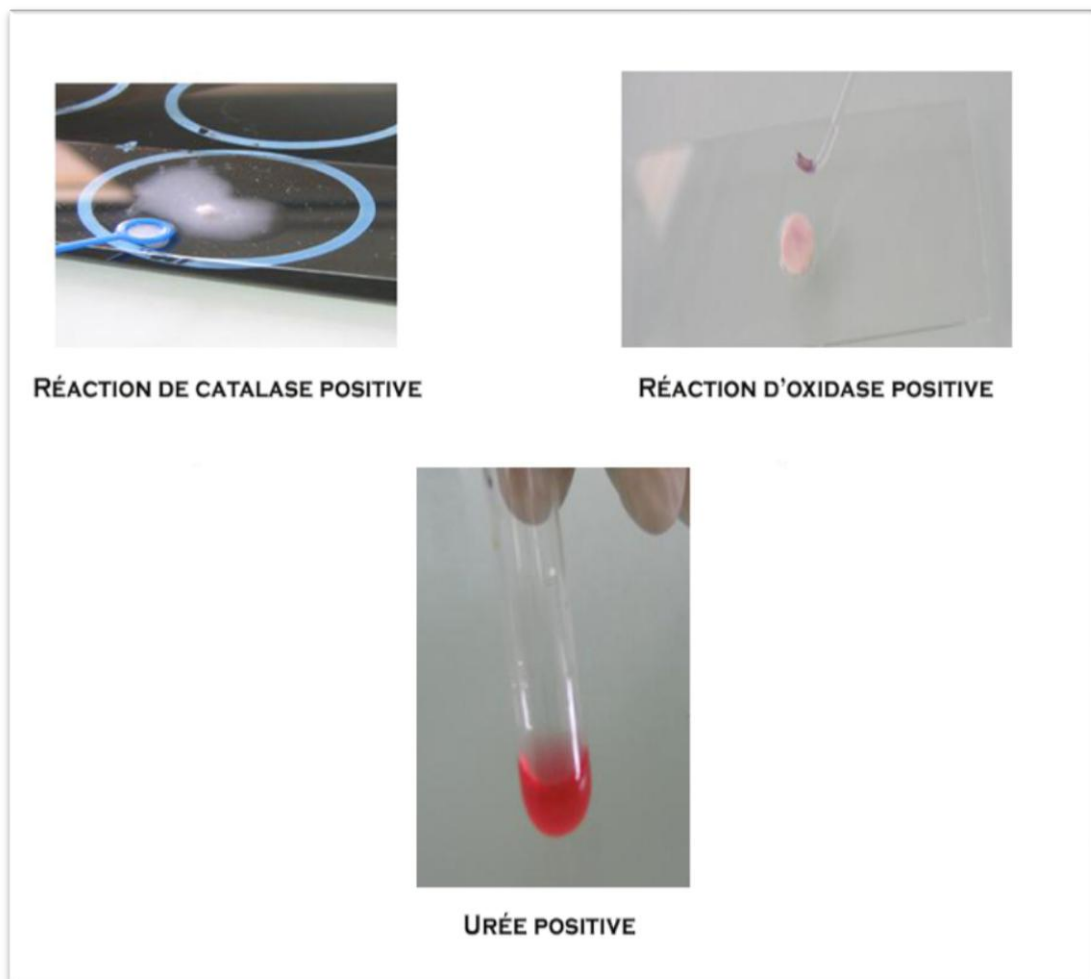
**Tableau 2 : la survie des brucelles dans l'environnement (LE GUYON, 1960)**

Milieux	<i>durée de survie</i>
Gélose	<i>Neuf(9) mois</i>
Terre et poussière stérilisée	<i>Deux semaines à deux mois</i>

<i>Lait</i>	<i>Vingt(20) jours</i>
<i>Urine et vêtement souillés d'urine</i>	<i>Vingt jours (20) à plusieurs mois</i>
<i>Locaux vides, mangeoires, abreuvoirs</i>	<i>Un a deux mois</i>
<i>Prairies</i>	<i>Un a trois mois</i>
<i>Fumier et litière</i>	<i>Un mois en profondeur à un an en surface</i>
<i>Avortons</i>	<i>75 jours</i>
<i>Points d'eau</i>	<i>10- 70 jours</i>

## 8. Caractères biochimiques :

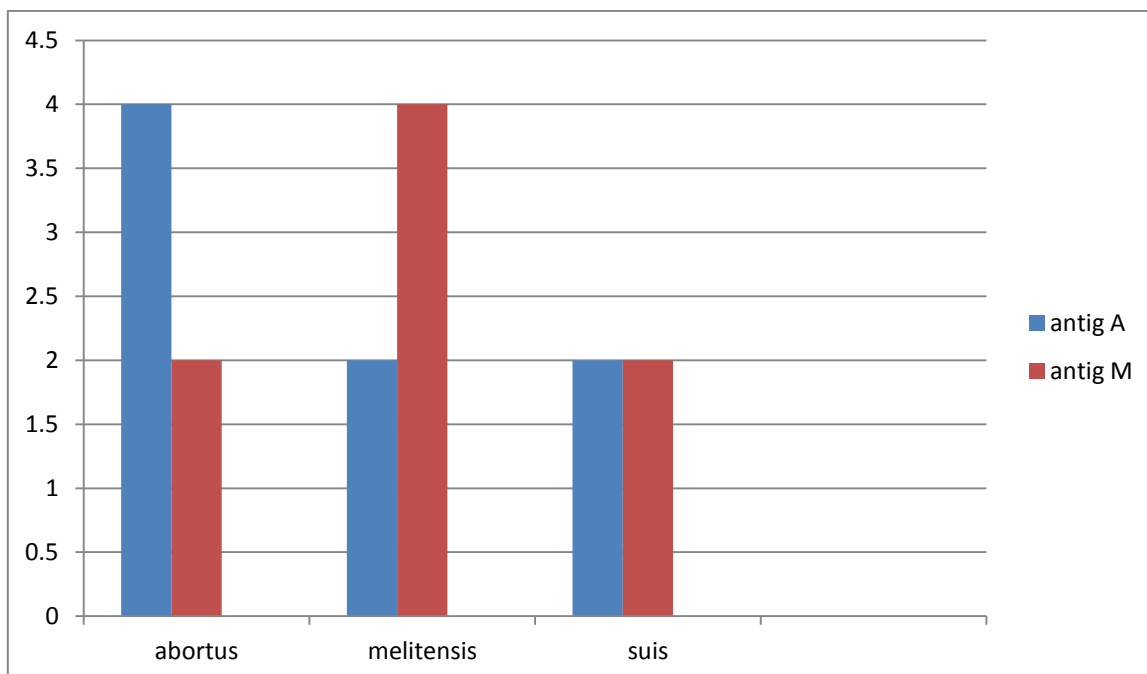
Les Brucelles possèdent (oxydase, catalase et uréase) Elles n'utilisent pas le citrate et ne produisent pas **lindole** ni **l'acétyl-méthyl-carbinol (réaction de voges – proskauer négative)** l'utilisation des sucres est lente et n'est pas décelée sur les milieux ordinaires car l'acidification est masquée par la production d'ammoniaque.



**Figure 2 : Tests biochimiques utilisés pour l'identification de Brucella.**

### 9. Structure antigénique :

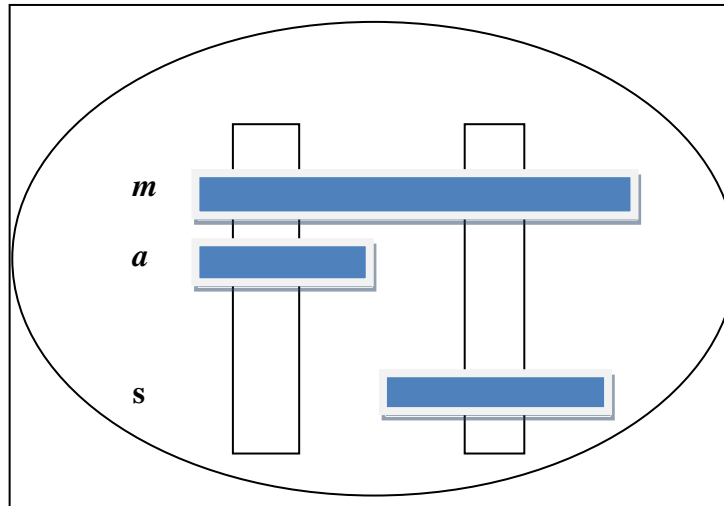
Les brucelles possèdent des antigènes de structure **lipopolysaccharidique** appelés **A** et **M** intégralement selon les espèces (FLANDROIS,1997). L'Antigène adomine chez *B. abortus*, M chez *B. melitensis* et existe en proportion intermédiaire et égale chez *B. suis* (LE MINOR ET VERON 1989) les autres espèces sont dépourvus de ces antigènes les anticorps anti *Brucella* agglutinent (ce sont des réactions croisées) *Yersinia enterocolitica* ;*francisellatularansis* et certains salmonelles (FLANDROIS 1997) *vibrio cholera*(LE MINOR VERON ,1989) et plus rarement *Escherichia coli*.



**Figure 03 : Répartition des antigènes A et M selon les espèces de brucella**

### 10. Action des colorants :

L'action bactériostatique de deux colorants la fuchsine et la thionine est différente selon les espèces (HULDDLESON, 1932) la thionine inhibe la croissance de *B .abortus*(AVRIL ET AL 1992), la fuchsine celle de *B suis* tandis que l'une et l'autre sont sans action sur *B.melitensis* le schéma ci- dessous résume ces propriétés.



**Figure 4 : Action bactériostatique de la fuchsine et la thionine selon les espèces de brucella.**

### 11. Action des bactériophages lysotypie :

Le bactériophage « **Tbilissi** » provoque la lyse des cultures de **B abortus** aux dilutions d'épreuves habituelles et elles présentent les mêmes caractères métabolique du point de vue de l'oxydation il n'agit qu'à forte concentration (**10.000 DCE**) sur **B. suis** (la **DCE** ou dose courante d'Epreuve correspond à la plus grande dilution du phage produisant une lyse confluyente sur une souche étalon) d'autres bactériophages ont des actions lytiques et permettent de lysotyper les différentes souches.

### 12. Classification de Huddleson :

Elle est fondée sur les résultats d'épreuves conventionnelles et permet de distinguer les différentes espèces et parmi elles les différents biotypes le tableau ci-dessous en fournit une version simplifiée qui intéresse les trois espèces principales.

**Tableau 3 : Caractères biochimiques des espèces de brucella (CEON 1988)**

	Besoin en CO <sub>2</sub>	Production H <sub>2</sub> O	Uréease	Croissance sur		Agglutination par	
				Thionine	Fuchsine	Anti-A	Anti-M
<b>Abortus</b>	+	+	+		+	+	

<b>Melitensis</b>	-	-	+	+	+	-	+
<b>Suis</b>	-	++	+	+	-	+-	+-

### 13. Symptômes et mode d'évolution de la maladie chez l'homme :

La brucellose humaine est une maladie cosmopolite , essentiellement sporadique (**CRAPLET et THIBIER ,1980**) la maladie chez l'homme est plus fréquemment appelée : **fièvre ondulante , fièvre malte, fièvre méditerranéenne** ou **maladie de bang** il existe pas de différence caractéristique dans la symptomatologie de la maladie humaine suivant le germe en cause la maladie est surtout professionnelle : ( fermier, vétérinaire , employés d'abattoirs ou d'une usine de charcuterie) qui sont souvent exposés à cette maladie .

Quatre variétés peuvent être pathogènes pour l'homme : **B .melitensis, B.suis, B .abortus, B.canis (PECHERE et al, 1983)**

C'est une maladie sous-estimée car les formes inapparentes sont nombreuses la maladie humaine comporte la plus part du temps une phase septicémique à laquelle peut faire suite une infection chronique récidivante désespérément tenace (**PECHERE et al 1983**)

La durée d'incubation après pénétration se caractérise par un stade préliminaire long durant des jours ou des semaines (**8 à 20 jours**) ce qui correspond à l'infection focale primaire .une fois la bactérie pénètre elle sera entraînée par voie lymphatique vers le premier relais ganglionnaire qui constitue le foyer primaire périphérique ou profond ganglions auxiliaire ganglion mésentérique ganglion médiastin aux .

Après multiplication la bactérie passe dans la circulation générale et les signes cliniques apparaissent (**LA MINOR et VERON 1989**) En fonction du facteur d'attaque et des facteurs de résistance on peut distinguer trois formes cliniques (**CRAPLET et THIBIER 1980**)

#### 13.1 Formes aiguë septicémique :

Aucun symptôme pathognomonique ne marque le début de la maladie ; on note en général de la diaphorèse nocturne et de la diurne rémittente ou plusieurs attaques répétées de la **fièvre ondulante** chacune d'elles dure plusieurs jours et est coupée de rémission entre les vagues la température maximale ne dépasse pas habituellement **1.5 à 2.5 °C** de plus que la normale (**FROBISHIER ET FUESRT 1976**), La courbe classique de la fièvre n'est cependant pas toujours fréquente au cours des accès de fièvre les malades sont rapidement fatigués ils représentent des

sueurs abondantes une somnolence une irritabilité de la dépression et plus tard une lombalgie des raideurs des articulations une perte de poids importante (**BLOOD et HENDERSON, 1976**) ,La durée d'incubation peut durer de **4 a 5** jours et elle peut durer un mois cette forme septicémique s'accompagne de splénomégalie dans **50%** cas, d'adénopathie d'hépatomégalie et avec des localisations divers (**25%**) la leucocytose est normal ou normal ou réduite avec une lymphocytose relative (**PECHERE 1983**) les grandes constantes biochimique ne sont pas perturbés par contre l'examen hématologique est intéressant anémie discrète (autour de **4000000** de globules rouges) leucopénie avec neutropénie et seulement les réactions immunologiques traduisent la lutte de l'organisme (**CRAPLET et THIBIER 1980**) .

### **12.2 Formes inapparente :**

On peut observer des formes atténuées parfois cliniquement inapparente mais aussi des formes graves allant jusqu'à la brucellose poly-viscérale maligne oséo-articulaires atteignant surtout l'articulation sacro-iliaque et le rachis (**RECHERE 1983**) les manifestations récents peuvent être habituellement guéries par un traitement soutenu au moyen des sulfamides antibiotiques et par le repos au lit (**BLOOD et HENDERSSON 1976**).

### **12.3 Formes chronique :**

La brucellose chronique peut faire suite a une brucellose aigue ou subaigüe les manifestations chronique sont plus difficiles a guérir et dans un certain nombre de cas une cirrhose de foie se développe après des années ou des ou des décennies ces manifestations peuvent survenir plus longtemps parce que les signes clinique ont été très discrets, La brucellose chronique a été souvent qualifiée de « **patraqueriebrucelienne** »(**ALZARD 1986**) Avec un état général bien conservé les signes fonctionnels a tonalité neuropsychique dominants asthénie physique psychique et parfois sexuelle pouvant entrainer des troubles de caractères un tableau de dystonie neurovégétative donne des signes trée variables d'un sujet a l'autre c'est le syndrome subjectif commun de la brucellose chronique dont l'évolution peut être prolongé et sur lequel l'antibiotique n'a aucun effet (**MINOR et VIRON 1989**) .



# ***CHAPITRE***

## ***II :***

### ***BRUCELLOSE BOVINE***

## **1. DEFINITION :**

La brucellose bovine est une maladie faisant principalement suite à une infection par *Brucella abortus*. Elle se caractérise d'un point de vue clinique par des troubles de la reproduction (avortement ou mise bas par veaux peu viables, orchite et épидидymite avec stérilité fréquente chez les taureaux) et aussi, en régions tropicales, par des atteintes articulaires (**hygromas brucelliques**). *B. abortus* est une bactérie intracellulaire facultative, provoquant une infection pouvant persister toute la vie de l'animal, et retrouvée dans les sécrétions vaginales et mammaires. L'homme, bien que considéré comme un «culdesac» épidémiologique, développe fréquemment une infection persistante caractérisée par un état fébrile intermittent dénommé «**fièvre ondulante** ».

## **2. HISTORIQUE :**

Chez l'homme, la brucellose est une maladie connue sous les noms de **fièvre de Malte**, **fièvre ondulante** ou **fièvre méditerranéenne**. En effet, c'est lors des guerres napoléoniennes que les Britanniques débarquèrent en **1800** sur **l'île de Malte**, afin d'en chasser les Français. Depuis cette date et durant tout le **XLXe** siècle et le début du **XXe** siècle, cette maladie fit de sévères ravages parmi les soldats et les marins de la garnison maltaise. Cette situation explique les nombreuses recherches conduites par le corps médical de l'armée britannique, mais aussi par les médecins locaux. C'est en **1887** que le médecin-**capitaine Bruce** isole l'agent causal de la rate d'un soldat décédé de cette maladie, et cette nouvelle bactérie est désignée sous le nom de *Micrococcus melitensis*. Cependant, ce n'est que **18 ans** plus tard, en **1905**, que **Zammit**, un médecin maltais membre de la Commission officielle créée pour étudier cette maladie, démontre le rôle de la chèvre comme réservoir animal du germe. Chez les animaux, c'est Bang, un vétérinaire danois, qui indépendamment des travaux précédemment rapportés isole en **1897** un bacille d'un avorton bovin. Ce bacille, nommé « **bacille de Bang** » s'avéra, par la suite, être l'agent responsable de l'avortement contagieux des vaches. En **1914**, **Traum** isole, aux États-Unis, l'agent responsable d'avortements chez la truie. Toujours aux États-Unis, **Alice Evans** en **1918**, étudiant les agents responsables de la fièvre de Malte et de l'avortement contagieux des bovins, propose sur la base des relations étroites existant entre ces deux agents, de les regrouper dans le genre *Bacterium*. En **1920**, Meyer et Shaw proposent de classer les agents isolés par Bruce et Bang dans un nouveau genre, qui comprendrait deux espèces, *Brucella melitensis* et *Brucella abortus*. Il faut cependant attendre **1929** pour que l'agent responsable de l'avortement chez la truie soit considéré comme une espèce distincte

de *Brucella abortus*. Cette nouvelle espèce est alors dénommée *Brucella suis*. Depuis 1966, trois espèces supplémentaires ont été ajoutées au genre : *Brucella ovis* isolé chez un bélier en 1950 par McFarlane et ses collaborateurs, *Brucella neotomae* isolé chez un rat du désert en 1957 par Stoenner et Lackman et *Brucella canis* isolé chez une chienne en 1968 par Carmichael et Brunner. En 1994, Ewalt décrit pour la première fois un avortement chez un dauphin maintenu en captivité et dû à une bactérie appartenant au genre *Brucella*, mais ne pouvant pas être identifiée à l'une des six espèces de *Brucella* déjà connues. L'isolement de *Brucella sp.* chez des cétacés et des pinnipèdes a été depuis rapporté à plusieurs reprises. En 2001, Cloeckert et al. proposent de grouper ces souches de *Brucella* en deux nouvelles espèces : *Brucella Cetaceae* et *Brucella pinnipediae*.

### **3. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE :**

De très nombreux pays sont encore infectés de brucellose bovine, avec une prévalence et une incidence variable selon les régions. La situation zoonositaire internationale relative à la brucellose bovine évolue en effet continuellement du fait des échanges mondiaux et de l'évolution des programmes de surveillance nationaux.

### **4. IMPORTANCE ÉCONOMIQUE :**

La brucellose bovine entraîne de graves pertes pour l'élevage : une étude conduite en 1980 a révélé que ces pertes s'élevaient annuellement à plus de 240 millions de dollars américains pour le seul continent sud-américain, dont la moitié de cette somme pour l'Argentine. En raison de son impact économique sur la santé et les productions bovines, ainsi que des séquelles de la maladie chez l'homme, des moyens ont donc été dégagés dans de nombreux pays industrialisés afin de mener à bien des programmes de contrôle, puis d'éradication de la brucellose bovine. Ces programmes ont été principalement basés sur la vaccination des animaux jeunes ou ayant atteint l'âge de la reproduction d'une part, et sur l'abattage des animaux exposés ou infectés réagissant aux épreuves de diagnostic sérologique de la brucellose, d'autre part : une étude canadienne a démontré que chaque dollar investi dans un programme de lutte permettait à l'éleveur d'éviter cinq dollars de pertes liées à l'infection de son cheptel. C'est donc à la fois pour des raisons zootechniques, sanitaires, économiques et de santé publique que les pays non encore indemnes de brucellose bovine devront mener à bien des programmes de lutte contre cette maladie.

## 5.ÉPIDÉMIOLOGIE :

### 5.1Espèces animales affectées

*B. abortus* infecte essentiellement les bovins domestiques, mais la bactérie peut atteindre d'autres espèces domestiques, telles que le buffle d'Asie, le yack ou le dromadaire ainsi que plusieurs espèces de ruminants sauvages d'Afrique (buffle, gnou et différentes espèces d'antilopes) ou d'Amérique (bison et élan wapiti). Les bovins sont aussi infectés par *B. melitensis*(et peuvent développer une maladie comparable à celle induite par *B. abortus*), lorsque ceux-ci sont en contact avec des chèvres ou des moutons infectés. Cette situation a une signification épidémiologique et de santé publique importante dans les pays du pourtour méditerranéen. Enfin, *B. suis* semble être, à l'heure actuelle, le principal agent de la brucellose bovine dans certains pays d'Amérique latine, en particulier au Brésil et en Colombie. Le cheval, au contact de bovins infectés par *B. abortus* peut développer une infection chronique des bourses séreuses du cou et du garrot, avec une symptomatologie variable et inconstante, qui peut éveiller la suspicion. De rares cas d'avortement brucellique et de stérilité ont été rapportés chez la jument. Les ovins, caprins et porcins sont peu sensibles à une infection à *B. abortus*. L'homme est sensible à toutes les espèces de *Brucella* (encadré), ce qui constitue un problème de Santé publique majeur.

### 5.2. Sensibilité individuelle :

Il ne semble pas exister de races bovines plus résistantes que d'autres à l'infection brucellique. De même, aucune étude en conditions contrôlées n'a montré que les mâles soient plus résistants que les femelles, bien que cela ait été suggéré.

### 5.3. Sources et transmission de l'infection :

La brucellose peut être transmise tout autant par des bovins présentant des symptômes que par ceux atteints par une infection asymptomatique.

#### **Encadré • La maladie chez l'homme**

**La brucellose humaine est souvent une maladie professionnelle. Elle se rencontre principalement chez les fermiers,**

**Les vétérinaires, le personnel d'abattoir ou de laboratoire de diagnostic au contact de matériel infectieux**

**Ou après inoculation accidentelle du vaccin anti-brucellique. L'infection peut également faire suite à l'ingestion de produits lactés infectés. Il n'y a sans doute pas, mis à part la grippe, d'affection plus variée dans sa symptomatologie que la brucellose. D'emblée, il est important de signaler que la brucellose est asymptomatique dans environ un cas sur deux. Ces infections asymptomatiques ne sont généralement mises en évidence que lors d'analyses sérologiques. Après une période d'incubation de 5 à 30 jours ou plus, une maladie plus ou moins sévère peut survenir. Les patients présentent typiquement une fièvre intermittente, des tremblements, des douleurs articulaires, des céphalées, une dépression et des sueurs nocturnes. Les localisations cliniques sont aussi nombreuses que diverses : localisations ostéo-articulaire (responsables par exemple de sacro-illites) urogénitale, nerveuse, hépatique, cardiovasculaire, glandulaire. Il est à noter qu'en cas d'infection à *B. melitensis*, le problème de santé publique se pose avec plus d'acuité, car cette espèce est plus pathogène que *B. abortus* pour l'homme. Des lésions cutanées papuleuses ou pustuleuses localisées sur les mains ont également été décrites comme étant des réactions d'allergie à *B. abortus*.**

**Le traitement de la brucellose humaine recommandé par l'OMS consiste en une double antibiothérapie (doxycycline et rifampicine ou streptomycine) mise en œuvre durant six semaines. Mais, jusqu'à ce jour, tous les protocoles thérapeutiques développés ont rencontré des échecs : environ 5 p. 100 de rechutes, dans les meilleurs cas.**

Les animaux s'infectent généralement par ingestion de nourriture, d'eau, de colostrum ou de lait contaminé ou par léchage du placenta, de fœtus avorté, du veau ou de l'appareil génital d'un bovin ayant avorté ou mis bas récemment, les lochies étant particulièrement riches en germes. Les animaux peuvent également s'infecter par voie conjonctivale. La brucellose peut également se transmettre de la mère à son veau, *in utero* ou immédiatement après sa naissance, les taureaux infectés peuvent excréter *B. abortus* leur semence et ils doivent toujours être concentrés. Dans les troupeaux infectés, comme tellement dangereux. Le matériel d'élevage, de traite ou d'insémination artificiel contaminé est une autre source d'infection - que *B. abortus* bien qu'il ait été isolé de tiques, la transmission par des arthropodes d'un troupeau infecté à un troupeau non infecté n'a jamais été démontrée. Les hygromas brucelliques peuvent contenir de grandes quantités de germes. Cependant, ils

ne semblent pas participer à la diffusion de la maladie, le risque d'introduction de l'infection par transfert d'embryon est négligeable.

#### **5.4. Evolution de Sa maladie :**

La brucellose bovine est une infection chronique, qu'une vache malade n'avorte, en général, qu'une fois, elle reste infectée et peut excréter des unies dans le lait et les sécrétions du tractus au cours d'un vêlage ultérieur, apparemment normal. En right considère que dans la mesure où la plupart des vaches infectées de façon chronique n'avortent qu'une fois, celles-ci sont Capables d'empêcher *B. abortus* d'atteindre leur sphère génitale, ou tout au moins le fœtus, et peuvent Être considérées comme « fonctionnellement » indemnes Un nombre significatif de vaches non gestantes Semblent résister à l'infection. Les nœuds lymphatiques drainant le site initial d'invasion sont colonisés par *B. abortus*, qui pourra survivre dans le compartiment intracellulaire du macrophage. Un grand nombre de ces animaux développent des Réactions sérologiques transitoires de faible amplitude, signant l'absence de stimulation antigénique continue. Cependant, différents auteurs ont montré le danger que constituent les animaux sans anticorps spécifiques, mais porteurs de la bactérie : **2,5 à 9 p. 100** des jeunes femelles peuvent être infectées *in utero* (ou à la naissance) et ne présenter des symptômes que lors d'une gestation ultérieure, à savoir un avortement au **6eme ou 7eme mois** de gestation Le fœtus bovin est, quant à lui, remarquablement sensible à l'infection brucellique L'isolement et le biotypage des *B. abortus*, peut fournir de précieuses informations épidémiologiques permettant de « tracer » les infections, notamment dans les pays où plusieurs biovars sont rencontrés.

#### **5.5. Taux de prévalence :**

Des études réalisées en Afrique au cours des années **1960**, ont révélé un taux de prévalence des anticorps de l'ordre de **10 à 16 p. 100**. Les données relatives à la prévalence de la brucellose bovine en Afrique sont malheureusement rares. Lorsqu'elles existent, elles sont principalement basées sur des résultats sérologiques obtenus au laboratoire, souvent sans confirmation bactériologique sur un échantillonnage non représentatif d'une population bovine d'une région ou d'un pays De plus, la prévalence varie au sein d'un même pays en fonction des mesures de contrôle éventuellement appliquées, en particulier les programmes de vaccination Ainsi, en Afrique du Sud. Suite à la vaccination anti

brucellique généralisée, la prévalence nationale est-elle passé de **10,5 p. 100** en **1976** à **1,4 p. 100** en **1989** cependant d'importantes variations régionales».

### **5.6 Facteurs favorisant l'extension de la maladie :**

L'intensification de l'élevage semble favoriser l'extension de la maladie. La distribution de la brucellose en « poches d'infection » peut être expliquée par le fait que certains troupeaux sont confinés alors que, pour d'autres, les pâturages sont communs à différents troupeaux au statut sanitaire inconnu.

### **5.7 Réservoir de l'agent pathogène :**

Il est très difficile d'apprécier, l'importance épidémiologique éventuelle d'un réservoir de *B. abortus* au sein de la faune sauvage. En Afrique du Sud, *B. abortus* a été isolé chez le buffle. Une enquête sérologique réalisée dans le parc national **Kruger** a montré que plus de **23 p. 100** de ces animaux présentaient des anticorps spécifiques. Compte tenu du nombre de contacts peu fréquents entre buffles et bovins et des contrôles très stricts des mouvements pour cause de fièvre aphteuse, ces buffles ne sont pas considérés comme ayant une grande importance épidémiologique en matière de brucellose bovine. Au **Zimbabwe**, au cours des années **1990**. La séroprévalence de la brucellose était de **14 à 29 p. 100** chez le buffle et l'infection brucellique s'est maintenue dans ces populations, sans qu'il y ait eu contact avec des animaux domestiques infectés. Dans ce pays, le buffle est considéré comme un réservoir de germes potentiel pour les bovins, vu l'absence de contrôle strict. En Amérique du Nord, *B. abortus* a été isolé à de nombreuses reprises de bisons et d'élan wapitis vivant à l'état sauvage, ce qui représente un risque pour les bovins.

## **6. Agent pathogène :**

### **6.1 Caractéristiques bactériologiques :**

Toutes les *Brucella* ont en commun le fait d'être des petits coccobacilles ou des petits bâtonnets mesurant de (**0,6 à 1,5 mm** sur **0,5 à 0,8**), immobiles, non sporulés et ne gardant pas la coloration de Gram. Elles ne se développent qu'en aérobiose et certaines exigent une atmosphère contenant de **5 à 10 p. 100** de **CO<sub>2</sub>**. Leur croissance est lente, mais elle peut être accélérée sur certains milieux riches comme des géloses additionnées de

sérum et de glucose. Sur boîtes de Pétri, les colonies sont, pour les formes « **smooth** », rondes, translucides, lisses, convexes et de contours nets. Cet aspect des colonies est dû à la présence d'un lipopolysaccharide (**LPS**) dans la membrane externe de la bactérie. Il s'agit d'une molécule ancrée dans la membrane externe par une partie lipidique (**lipide A**) couplée à une corê oligosaccharidique, lui même lié à une répétition de motifs saccharidiques (**chaîne O**). Parfois, des colonies rugueuses et opaques apparaissent (forme « **rough** »), suite à des mutations spontanées. Chez ces souches, le **LPS** est dépourvu de chaîne **O**. Quant aux espèces naturellement rugueuses (*B. ovis* et *B. canis*), elles ne donnent jamais de colonies de type lisse. Les *Brucella* ne produisent pas d'indole, n'utilisent pas le citrate et n'entraînent pas d'hémolyse du sang. Elles produisent toutes une catalase. Chaque espèce a un hôte ou une gamme d'hôtes préférentiels. La classification des *Brucella* en différentes espèces repose sur la sensibilité à la lyse par des bactériophages et sur les caractères suivants : type morphologique des colonies, exigence en sérum, présence d'une oxydase et d'une uréase. Les trois espèces classiques sont divisées en bio vars, principalement sur la base de l'exigence en **CO<sub>2</sub>**, de la production **d'H<sub>2</sub>O**, de la sensibilité aux colorants (thionine et fuchsine basique) et de l'agglutination par des sérums spécifiques. Les principales caractéristiques bactériologiques des six espèces reconnues de *Brucella* et de leurs biosvars.

## 6.2. Taxonomie actuelle :

Sur la base d'études d'hybridations réciproques, **ARN** ribosomiques -**ADN** et **ADN-ADN**, une étroite relation entre le genre *Brucella* et les agents pathogènes de plantes du groupe **Agrobacterium Rhizobium** a été montrée. Plus récemment, **Moreno et al** ont proposé de regrouper les *Brucella* dans la sous-classe alpha-2 des protéobactériacées. À l'intérieur de cette sous-classe, *Brucella* est spécifiquement rattachée aux bactéries des genres **Bartonella**, **Rickettsia**, **Agrobacterium** et **Rhizobium**. Cette classification suggère que *Brucella* et certaines bactéries pathogènes de plantes ont un ancêtre commun. **Cherwonogrodz** propose d'ailleurs la séduisante hypothèse suivante : durant révolution, un microorganisme pathogène de plante (ancêtre commun des *Brucella* et autres bactéries de la sous-classe alpha-2)



**Tableau 4 : Quelques caractéristiques des six espèces reconnues de *Brucella* et leurs biovars, déterminés par les tests de laboratoire**

Espèces	biovar	Co2	H2O	Croissances sur les milieux contenant l'un des trois produits suivants			Agglutination par le sérum mono spécifique		Lyse par les phages Tb à RTD
				Thionine	Fuchsine a	Safranine O 1 /10 000	A	M	
<i>B.abortus</i>	1	(+) b	+	-	+	+	+	-	L
	2	(+)	+	-	-	-	+	-	L
	3	(+)	+	+	+	+	+	-	L
	4	(+)	+	-	+c	+	-	+	L
	5	-	-	+	+	+	-	+	L
	6	-	(-) b	+	+	+	+	-	L
	9	-	+	+	+	+	-	+	L
<i>B.suis</i>	1	-	+	+	-d	-	+	-	NL
	2	-	-	+	-d	-	+	-	NL
	3	-	-	+	-	-	+	-	NL
	4	-	-	+	(-)	-	+	+	NL
	5	-	-	+	-	-	-	+	NL
<i>B.melitensis</i>	1	-	-	+	+	+	-	+	NL
	2	-	-	+	+	+	-	-	NL
	3	-	-	+	+	+	+	+	NL
<i>B.ovis</i>		+	-	+	(+)	-	-	-	NL
<i>B.canis</i>		-	-	+	-	-	-	-	NL
<i>B.neotomae</i>		-	+	-	-	-	+	-	NL/PL

Phage Tb : Phage Tbilissi ; L = lyse confluite ; PL = lyse partielle ; NL = pas de lyse.

**A** : Concentration = 1/50 000 p/v.

**B** : (+) = la plupart des souches présentent une réaction positive à ce test.

(-) = la plupart des souches présentent une réaction négative à ce test.

**C** : certaines souches sont inhibées par la fuchsine.

**D** : certaine souche résistance à la fuchsine et à la safranine O

**co2** : exigence en co2 pour la croissance

**h2s** : production d'hydrogène sulfuré

Les souches lisses de *brucella* présentent différents épitopes associée au lipopolysaccharide de surface (**LPS**) qui peuvent être révélés par une agglutination réalisée à l'aide d'antisérum

polyclonaux monospécifiques (Anti A- Anti M) les souches rugueuse ne possèdent pas des épitopes A et M.

Aurait été ingéré par un herbivore et aurait alors trouvé rapidement un nouvel hôte à infecter. Récemment, des souches de *Brucella* ont été isolées chez de nombreuses espèces de mammifères marins. Les méthodes de typage conventionnelles ou moléculaires ne permettent pas de les classer au sein d'une des six espèces décrites. Le statut taxonomique de ces isolats reste à élucider. Bien qu'il ait été proposé de les classer en deux espèces, **B. cetacea** et **B. pinnipediae**.

### **6.3 Caractéristiques génétiques :**

Des études sur l'homologie des ADN montrent, par des techniques d'hybridation, que les six espèces de *Brucella* présentent un haut degré d'homogénéité génétique. Sur la base de ces observations, des chercheurs ont proposé le regroupement des différentes espèces en une seule : ***Brucella melitensis***. Ils expliquent cette homogénéité génétique et l'absence de diversité antigénique par une caractéristique inhabituelle à savoir l'absence de plasmide. Des plasmides natifs ou des phages lysogènes n'ont en effet jamais été mis en évidence chez ***Brucella***. Le transfert horizontal de gènes au sein du genre *Brucella* reste donc hypothétique. Par contre, une séquence d'insertion (***IS711*** ou ***IS6501***) a été identifiée. Six à dix copies de cette IS ont été mises en évidence chez toutes les espèces de *Brucella* sauf chez ***B. ovis*** et chez ***B. cetacea***, qui en contiennent plus de 25 copies. Cette caractéristique pourrait être utilisée dans le typage moléculaire de *brucella*.

### **6.4. Résistance :**

***B. abortus*** est sensible à la pasteurisation et les conditions de survie hors de l'hôte sont largement dépendantes des conditions environnementales. L'agent pathogène peut survivre plus de 8 mois dans un avorton à l'ombre, 2 à 3 mois dans un sol humide, 3 à 4 mois dans des fèces et plus de 8 mois dans des fosses à purin. De façon générale, un mois après l'enlèvement du matériel biologique infecté suivi d'une désinfection rigoureuse, les risques d'infection n'existent plus dans un local.

## **7. PATHOGÉNIE :**

Les étapes initiales de l'établissement de l'infection brucellique sont peu connues. Comme dans toute maladie infectieuse, l'initiation de l'infection dépend de facteurs liés à la bactérie (dose, virulence), à l'hôte (résistance naturelle, âge, sexe, état physiologique) et

à l'environnement Les *Brucella* pénètrent généralement dans l'organisme au niveau de la muqueuse orale, du nasopharynx, des conjonctives, et par voie génitale, mais également par des abrasions ou des lésions cutanées. Le franchissement de cette première barrière de protection de l'hôte provoque une réaction inflammatoire aiguë dans la sous-muqueuse avec infiltration de leucocytes polynucléaires neutrophiles et de monocytes. L'infection s'étend ensuite par voie lymphatique aux nœuds lymphatiques locaux. On ignore si, à ce stade, les bactéries sont sous forme libre ou intracellulaire. Des bactéries persistent pendant une longue période dans les nœuds lymphatiques qui drainent le site d'inoculation. Si *Brucella* n'est pas éliminée à cette étape, elle se propage par le sang très certainement sous forme intracellulaire dans des neutrophiles et des macrophages. Il résulte de cette bactériémie une infection d'une grande variété de tissus. *Brucella* est le plus fréquemment isolée des tissus lymphoïdes, de la glande mammaire et des organes reproducteurs mais d'autres localisations sont possibles (os, articulations, tissu nerveux, yeux). L'érythritol, qui est produit dans l'utérus de bovins gestants, stimule la croissance de *B. abortus*. La grande concentration d'érythritol dans le placenta et les eaux fœtales pourrait expliquer la localisation de l'infection dans ces tissus. Plusieurs études suggèrent que le LPS de *Brucella* serait l'agent responsable de l'avortement. Chez les bovins et les ovins, l'infection du fœtus entraînerait une augmentation du taux de cortisol fœtal conduisant à un « *shift* » hormonal responsable à son tour de l'avortement ou de la mise bas prématurée.

### **7.1 Survie de brucella dans les cellules phagocytaires :**

L'établissement d'infections chroniques par *Brucella* résulterait de sa capacité à survivre dans les cellules phagocytaires, qui la mettent à l'abri des mécanismes extracellulaires de défense de l'hôte tels que le complément et les anticorps. Une relation existe entre la virulence d'une souche et sa capacité à se multiplier dans les cellules phagocytaires. Ainsi, a-t-il été montré qu'une souche de *B. abortus* virulente résiste mieux à la destruction par des globules blancs bovins qu'une souche atténuée. De même, les souches lisses de

*B. abortus* résistent mieux à la destruction par les neutrophiles et les macrophages de la glande mammaire que des souches vaccinales atténuées rugueuses (**45/20** ou **RB 51**) ou lisse (**B 19**) **60- 64**. L'activité antimicrobienne des macrophages est modulée par la production séquentielle de cytokines, certaines étant sécrétées par le macrophage lui-même et d'autres par des cellules du microenvironnement. Le **TNF- $\alpha$**  (« **tumor necrosis**

**factorAlpha** ») est l'une des premières cytokines sécrétées par le macrophage et sa production résulte de l'interaction entre la bactérie et le macrophage. La capacité des macrophages à produire le **TNF-a** est une étape critique de leur activation. Un composé sécrété par *Brucella* inhibe spécifiquement

La synthèse de **TNF-a** par les phagocytes humains. Cet inhibiteur affecterait un stade précoce du processus d'activation du phagocyte. Il constitue donc un facteur de virulence intervenant dans un mécanisme de résistance précoce de *Brucella* à l'activité bactéricide de l'hôte, favorisant ainsi son développement dans ces cellules. Le trafic intracellulaire de *Brucella* dans les cellules phagocytaires n'est pas encore connu. Il a cependant été montré que le **pH** acide du compartiment phagolysosomal est important pour la survie de *Brucella* dans les macrophages, ces bactéries étant incapables de survivre dans le cytosol.

## **7.2. Résistance naturelle et macrophages :**

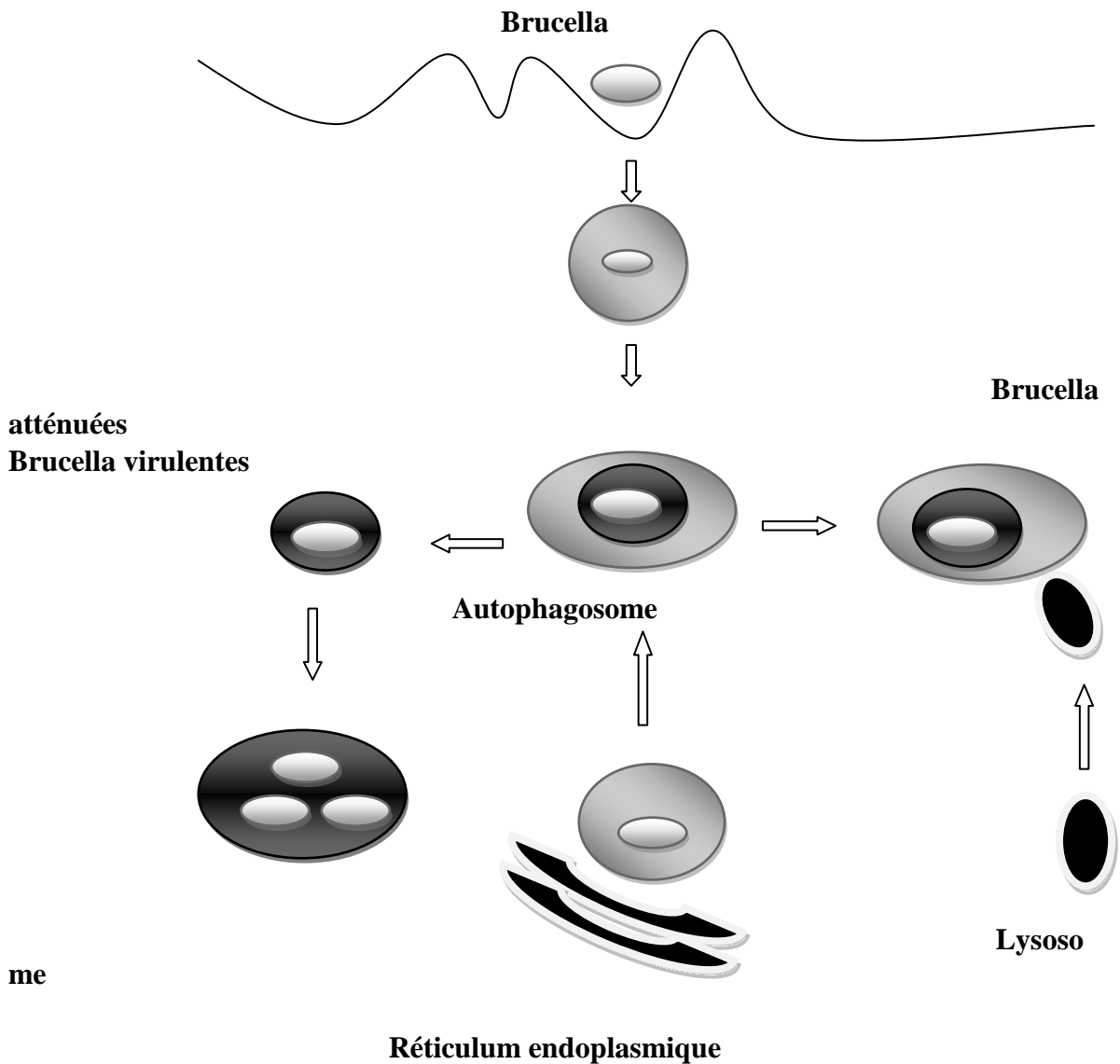
De nombreux bovins sont naturellement résistants à la brucellose. Il existe une corrélation entre la résistance (ou la sensibilité) naturelle de ces bovins et la capacité de leurs macrophages, dérivés des monocytes circulants, à résister à *B. abortus*, mais aussi à *Mycobacterium bovis* BCG et à deux espèces de *Salmonella*. Les bovins résistants contrôlent donc mieux la réplication intracellulaire de *Brucella*. Des macrophages mutins transferts avec le gène bovin **Nramp1** semblent mieux contrôler la réplication de *B. abortus*, ce qui suggère que la résistance naturelle à *Brucella* est associée à la protéine **Nramp**.

## **7.3. Survie de Brucella dans les cellules non phagocytaires :**

La localisation préférentielle de *Brucella* dans le réticulum endoplasmique rugueux des cellules non-phagocytaires de l'épithélium trophoblastique a d'abord été observée en microscopie électronique

Plus récemment, l'étude du trafic intracellulaire a démontré que, dans la vacuole d'internalisation, *Brucella* interagit avec les endosomes précoces mais qu'elle est capable d'éviter la fusion avec les endosomes tardifs. *Brucella* tire alors profit de la machinerie autophagique de la cellule hôte et reste localisée dans un compartiment qui a les caractéristiques d'une vésicule d'autophagie (autophagosome). À ce stade, les *Brucella*

virulentes sont capables d'inhiber la maturation de l'autophagosome et sont délivrées au réticulum endoplasmique de la cellule hôte, qui peut être défini comme le compartiment de réplication de la bactérie. Par contre, les souches non pathogènes sont dégradées après la fusion de leur vacuole avec des lysosomes.



**Figure 5 : Modèle proposé pour le trafic intracellulaire de *B. abortus* dans les cellules non phagocytaires**

Après invasion, les souches virulentes **S2308** et atténuées **B 19** sont localisées dans un phagosome précoce capable de fusionner avec un autophagosome provenant du réticulum endoplasmique. La souche B 19 est incapable d'inhiber la maturation de son phagosome, qui fusionne avec des lysosomes et provoque sa dégradation. Par contre, la souche **S2308** détourne la voie de maturation de l'autophagosome pour accéder au réticulum endoplasmique, où la réplication a lieu.

## 8. SYMPTÔMES :

Le symptôme cardinal de la brucellose est l'avortement. Celui-ci intervient généralement entre le 5<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> mois de la gestation lorsque la génisse a été infectée au moment de la saillie ou au tout début de la gestation. Cependant, le moment de l'avortement varie en fonction de facteurs tels que la résistance naturelle à l'infection, la dose d'infection et le moment de l'infection. Si l'infection a lieu dans la seconde moitié de la gestation, la vache infectée peut ne pas avorter mais donner naissance à un veau infecté. S'il s'agit d'une femelle, celle-ci peut ne pas présenter d'anticorps spécifiques pendant plus de 18 mois, avant d'avorter sa première gestation. Le pourcentage d'avortement au sein d'un troupeau est très variable.



**Figure 6: figure présentent un avortement brucellique**

Dans un troupeau n'ayant jamais été en contact avec l'agent pathogène, ce pourcentage est compris entre 50 et 70 p. 100. • les veaux nés de femelles brucelliques sont plus faibles que les veaux sains et peuvent mourir peu après la naissance lorsque la vaccination est pratiquée, la maladie prend alors une forme plus insidieuse : peu d'avortements produisent et la maladie devient indétectable cliniquement. Quatre-vingts pour cent des femelles infectées n'avortent qu'une fois. Suite à l'avortement, une rétention placentaire suivie de métrite peut survenir. Lorsque des avortements brucelliques se produisent dans un troupeau

indemne (on parle de « tempête d'avortements »), la production laitière peut chuter de **20 p. 100**. Chez la vache infectée, il n'y a pas de mammite apparente et le pis est normal à la palpation. Les taureaux peuvent présenter une orchite uni ou bilatérale, une épидидymite et une atteinte des vésicules séminales aiguë ou chronique. L'administration de la souche vaccinale **B 19** peut aussi provoquer de telles lésions. Des hygromas uni- ou bilatéraux, en particulier au niveau de l'articulation du carpe peuvent se rencontrer chez **100** des animaux lors d'infection chronique.



**Figure 7 : figure présente un hygroma chez un taureau**

## **9. LÉSIONS :**

De façon générale, des altérations histopathologiques spécifiques, mais variables et inconstantes peuvent être rencontrées dans les organes d'animaux morts de brucellose. Cependant, quelle que soit la voie d'infection, on peut observer une lymphadénite locale caractérisée par une hyperplasie lymphoïde et une infiltration importante de cellules mononucléées avec quelques neutrophiles et éosinophiles. Des lésions de gravité variable sont retrouvées au niveau de l'utérus : au fur et à mesure que l'infection progresse, l'endométrite évolue d'une forme aiguë (de modérée à sévère) à une forme chronique. La cavité utérine contient une quantité variable d'exsudat gris sale, consistant ou visqueux, chargé de flocons purulents de volume variable. Les cotylédons de la matrice, nécrotiques et de couleur gris-jaunâtre, sont recouverts d'un exsudat collant, sans odeur, de couleur brunâtre. Le placenta intercotylédonnaire n'est guère altéré de façon uniforme. Il est, par endroits, épaissi, oedémateux et exsudatif. Des lésions vasculaires, parfois accompagnées de thrombose se retrouvent dans le chorion. Les avortons présentent un œdème sous-cutané important et les cavités splanchniques contiennent un exsudat sérosanguinolent, parfois accompagné de pleuropneumonie au niveau thoracique. Cependant, certains fœtus ne présentent pas de lésions macroscopiques significatives. Le pis ne présente pas de lésion

macroscopique, mais une inflammation des nœuds lymphatiques Supramammaires, qui peuvent être hypertrophiés, est souvent rapportée. Les testicules peuvent présenter des lésions de nécrose multifocales ou diffuses atteignant le parenchyme testiculaire et l'épididyme. Dans les cas chroniques, des lésions granulomateuses se développent. Des hygromas localisés principalement au niveau du carpe, mais aussi au niveau d'autres articulations, contiennent quant à eux, de très grandes quantités de germes.

## **10. RÉPONSE IMMUNITAIRE :**

*Brucella* est un agent pathogène, qui induit chez son hôte une réponse immunitaire humorale mais également, du fait de son tropisme intracellulaire, une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Le **LPS**, contrairement à la majorité des protéines est un antigène dit « **T-indépendant** » Ceci signifie que la production d'anticorps dirigés contre le **LPS** ne dépend pas du développement d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Par opposition, la production d'anticorps dirigés contre des antigènes **T**- dépendants fait suite à l'induction d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Cela signifie notamment que ces antigènes sont présentés en association avec des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité aux lymphocytes **T**.

### **10.1 Réponse humorale :**

La réponse humorale dirigée contre *Brucella* est généralement similaire dans toutes les espèces animales infectées. Cette réponse est principalement dirigée contre l'antigène majeur de *Brucella*, à savoir son **LPS** et plus particulièrement sa chaîne **O**. la production d'anticorps dirigés contre des protéines de *Brucella* a également été décrite il s'agit d'anticorps reconnaissant des protéines de la membrane externe, des protéines localisées dans le périplasme ou le cytoplasme, dont des protéines de stress. Il semble y avoir une corrélation entre l'intensité de la réponse humorale **anti-LPS** et les titres en anticorps dirigés contre les protéines bactériennes. Néanmoins la réponse anti-protéine est plus tardive » plus hétérogène que la réponse **anti-LPS**. Chez la souris, le rôle bénéfique de la réponse humorale dans la résistance à *Brucella* a été démontré par l'injection d'anticorps polyclonaux ou d'anticorps monoclonaux dirigés contre la chaîne **O** du **LPS**, injection qui modifie l'évolution de la brucellose. Les anticorps dirigés contre la chaîne **O** du **LPS** jouent donc un rôle majeur dans l'induction d'une protection. Ce rôle prépondérant a également été démontré avec des vaccins sous-unitaires. Les anticorps **anti-LPS** interviennent dans la protection grâce à l'induction de la lyse bactérienne par la voie classique du complément et par l'opsonophagocytose. La bactérie opsonisée serait



également plus rapidement phagocytée. De plus, l'opsonisation des *Brucella* change la capacité des bactéries à survivre dans les cellules phagocytaires. **Ralston** et **Eldberg** ont montré que le traitement de macrophages n'ayant jamais été en contact avec le germe et de macrophages immuns avec du sérum immun augmentait leur capacité à contrôler la réplication des *Brucella* intracellulaires. Cependant, cet accroissement de la phagocytose, malgré l'activité accrue des phagocytes pourrait avoir comme conséquence, vue la résistance des *Brucella* à l'activité bactéricide des macrophages, une extension possible de l'infection dans l'organisme de l'hôte. À ce stade, seule la réponse immunitaire à médiation cellulaire permettrait encore la maîtrise de l'infection.

### **10.2 Réponse cellulaire :**

Lors d'une infection par *Brucella*, on observe également le développement d'une immunité à médiation cellulaire (**IMC**). Cette réponse est exclusivement dirigée contre les protéines, contrairement à la réponse humorale qui, lors d'une infection par *Brucella*, est dirigée à la fois contre le **LPS** et contre les protéines bactériennes. Ces données résultent principalement d'observations réalisées chez la souris. Le développement de cette IMC peut être décomposé en quatre étapes :

- les macrophages infectés par *Brucella* produisent plusieurs cytokines : le **TNF- $\alpha$**  ne joue un rôle que dans le contrôle précoce de l'infection par *Brucella* et n'a aucune importance dans le développement d'une **IMC**. L'**IL-12** semble être la cytokine-clé pour le déclenchement d'une **IMC**. En effet, une déplétion en **IL-12** provoque une exacerbation de l'infection et une inhibition de la production antigénospécifique d'interféron-gamma (**IFN- $\gamma$** ) par les lymphocytes **T CD 4 + et CD 8 + 7 8**
- les lymphocytes précurseurs (**TP**) se différencient en lymphocytes de type 1 (**T1**) : chez la souris, mais également chez l'homme, il est possible de distinguer une réponse immune de type 1 et une réponse immune de type 2. Les réponses de type 1 sont principalement caractérisées par la production d'**IFN- $\gamma$** , d'**IL-2** et d'**IgG2a**. Elles sont généralement observées lors d'infections par des bactéries intracellulaires ou par des virus. En réponse à des agents pathogènes extracellulaires, à des toxines ou à des allergènes, une réponse de type 2 se développe. Celle-ci est caractérisée par la synthèse de cytokines dites de type 2 (**IL-4, IL-5, IL-10**) et par des **IgG1** et **IgE**. Un même lymphocyte T, dit précurseur (**TP**), se différenciera en lymphocyte de type 1 (**T1**) ou de type 2 (**T2**) selon les stimuli qu'il recevra » les lymphocytes T1 comprennent à la fois des lymphocytes **CD4+** (ou **Th1** pour «

**helper** ») et des lymphocytes **CD8+** (ou **Te** pour « cytotoxique ») : ces deux populations sont importantes dans le contrôle d'une infection par *Brucella*. Suite à une stimulation antigénospécifique les lymphocytes **Th** et **Te** sont capables de proliférer et de produire de l'**IFN-γ** et **Délila- 27, 7 8**.

• l'**IFN-γ**, produit par les lymphocytes **Th** et **Te**, joue également un rôle crucial dans le contrôle d'une infection par *Brucella* : chez la souris, une déplétion en **IFN-γ** entraîne une exacerbation de la maladie tandis que l'injection de cette cytokine induit une protection. L'**IFN-γ** agit à plusieurs niveaux :

- il stimule les macrophages en augmentant leur potentiel bactéricide (production de radicaux libres et de **TNF-α**).
- il stimule les capacités bactéricides des **PMNs**, en augmentant la production de radicaux libres
- il induit le changement isotypique caractéristique d'une réponse de type 1 (la production d'**IgM** est remplacée par la production d'**IgG2a** et d'**IgG3**). Ces deux classes d'anticorps sont de très bons activateurs du complément et présentent une forte affinité pour les récepteurs **FC**, ce qui facilite la phagocytose de *Brucella* opsonisées.

## 11. DIAGNOSTIC

### 11.1 Diagnostic clinique et différentiel :

Les symptômes de la brucellose apparaissent tardivement, sont peu spécifiques et ne permettent pas une identification sans équivoque des individus atteints. Chez l'animal l'avortement conséquence importante de la maladie, peut aussi être provoqué par d'autres agents pathogènes que *Brucella* tels que *Trichomonas foetus*, *Campylobacter foetus*, *Leptospira pomona*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella burnetii*, ainsi que divers champignons (genre *Aspergillus* et *Absidia*) et virus (de la rhinotrachéite bovine infectieuse ou de la maladie des muqueuses). Vu la longue période asymptomatique, qui caractérise une infection brucellique, ainsi que la nature subclinique de la maladie chez la plupart des animaux, le diagnostic de la brucellose est principalement un diagnostic de laboratoire isolant de *B. abortus* et mise en évidence d'anticorps anti brucelliques dans le sérum des animaux infectés. Le test intradermique, capable de détecter l'état d'hypersensibilité retardée de l'animal infecté vivant à des extraits de *Brucella*, présente aussi un intérêt diagnostique certain, à l'échelle d'un groupe d'animaux.

## **11.2. Diagnostic de laboratoire :**

Outre le diagnostic direct ayant pour but la mise en évidence de la bactérie, les diagnostics indirects de la maladie visent à mettre en évidence l'immunité humorale ou cellulaire induite suite à l'infection par *Brucella*. Un test de diagnostic idéal de la brucellose devrait détecter l'infection précocement avant tout symptôme clinique, ne pas être influencé par la présence d'anticorps non-spécifiques dans le sérum des animaux, détecter les porteurs latents de l'infection et permettre la différenciation entre animaux vaccinés et animaux infectés. Les méthodes de coloration et le mode d'emploi des milieux de culture pour l'isolement de *B. abortus*, ainsi que la description des autres tests de diagnostic de la brucellose bovine, sont précisés dans *le manuelle standards of diagnostic tests and vaccines de l'OIE*

### **11.2.1. Prélèvements :**

Le prélèvement de choix pour la mise en évidence de *B. abortus* est le contenu stomacal du fœtus mais la culture de *Brucella* peut aussi être réalisée à partir d'échantillons liquides ou solides : sang, lait et colostrum et autres liquides (**sperme**), sécrétions vaginales, produits d'avortement, tissus solides (nœuds lymphatiques, prélèvement d'autopsie, produits d'avortement).

### **11.2.2 Mise en évidence de l'agent pathogène :**

La mise en évidence de *Brucella* est indispensable, et elle doit être entreprise dans tout groupe d'animaux dont le statut infectieux n'est pas clairement établi. La présence de *Brucella* dans les échantillons biologiques peut être suspectée par une coloration suivie d'un examen microscopique, mais le résultat qu'il soit positif ou négatif, doit être confirmé par culture. En effet, un résultat positif ne constitue qu'une suspicion de brucellose, car *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q et *Chlamydia psittaci* ou *C. decorum*, agents de la chlamydiose peuvent donner en coloration de Stampato des images similaires. L'isolement de *Brucella* se fait sur un milieu sélectif pour inhiber la croissance d'autres organismes que *Brucella*. L'isolement d'une colonie est suivi de tests biochimiques qui indiqueront son appartenance au genre *Brucella*.

### **11.2.3 Culture et identification :**

Toutes les cultures pour l'isolement de *Brucella* se font sur milieu sélectif (**milieu de Farrell**) et sont incubées à  $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$  en présence de  $8 \pm 2 \text{ p. } 100$  de  $\text{CO}_2$ . *B. abortus* étant dépendant du  $\text{CO}_2$  pour sa croissance. Le pourcentage d'isolement de Brucella chez une vache infectée est proche de  $100 \text{ p } 100$ . Lorsque les nœuds lymphatiques supra mammaires et iliaques internes ou ceux de la sphère oropharyngée, ainsi que les amygdales sont mis en culture.

Après **31** jours d'incubation, les colonies de *Brucella* ont. En général, entre **1** et **2** mm de diamètre. Elles sont bombées, transparentes de couleur miel en lumière transmise, lisse, luisante et présentent un contour régulier. La présence d'autres colonies. De graisse et de fragments de tissu à la surface du milieu peut perturber l'observation des colonies. Éventuellement, selon le nombre de colonies observées et la présence d'une flore contaminant. Les colonies suspectes seront repiquées sur un milieu de **Farrell** afin de disposer de colonies \_ isolées en nombre suffisant pour réaliser l'identification. Une culture sur milieu de Farrell est considérée comme négative si aucune colonie ne suspecte n'est observée après 10 jours d'incubation. Trois tests biochimiques sont utilisés en routine pour l'identification des colonies de Brucella : recherche de l'oxydase, de la catalase et de l'uréase.

#### 11.2.4 Amplification en chaîne par polymérase :

L'amplification en chaîne par polymérase (**PCR**), qui permet de détecter toutes les espèces de Brucella, est basée sur la détection de la séquence d'insertion **IS711**. D'autres méthodes permettant de différencier des souches de *B. abortus* sauvages des souches vaccinales **B 19** et **RB 51** ont également été mises au point.

#### 11.3 Diagnostic sérologique :

On peut arbitrairement séparer en deux groupes les tests visant à mettre en évidence l'immunité humorale induite par infection par Brucella. On distinguera d'une part les tests classiques, encore appelés « secondaires », parce qu'ils dépendent de la capacité des anticorps à réaliser une fonction immune (agglutination, fixation du complément et **ELISA**), d'autre part, les tests « primaires » qui ne nécessitent que la reconnaissance de l'antigène. Ces tests ont été, et sont toujours, couramment utilisés pour le dépistage de la

brucellose chez l'homme et les animaux Leur relatif manque de sensibilité individuelle et/ou de spécificité est compensé par leur complémentarité. Ces épreuves sérologiques sont utilisées sur le sérum ou le lait.

Les anticorps détectés sont pour la plupart dirigés contre des épitopes portés par le **LPS C** est la parenté antigénique entre *Brucella* et d'autres bactéries due à la similarité plus ou moins grande de leurs chaînes O respectives qui pose un problème en dépistage sérologique. Cette parenté antigénique a été décrite pour *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholera*, *Escherichia coli*, *Salmonella Urbana* et *Pseudomonas maltophilia*. À l'heure actuelle, en Europe, *Y. enterocolitica* est régulièrement isolée des matières fécales de bovins présentant des réactions sérologiques (faussement) positives dans les tests de dépistage de la brucellose bovine L'intensité et la durée de la réponse humorale suite à l'infection par *Brucella* sont très variables suivant les individus infectés et la dose infectieuse. La réponse humorale est aussi qualitativement variable (évolution des isotopes) On comprend donc facilement qu'aucun test ne permette à lui seul de détecter tous les animaux infectés Les principaux tests actuellement utilisés sont les suivants :

Séroagglutination lente en tube ou Séroagglutination de **Wright**.

Cette méthode (« **SAW** ») mise au point par **Wright** en **1897**, est la plus ancienne des épreuves de diagnostic. Elle met en évidence les agglutinines (principalement **IgM** et **IgG2**). Afin d'augmenter la spécificité de ce test, il est réalisé avec adjonction d'**EDTA** à l'antigène. Ceci diminue les réactions d'agglutination non spécifiques sans qu'il y ait sous-estimation du titre des sérums provenant d'animaux infectés. Bien que l'utilisation de ce test soit découragée au plan international, il est toujours utilisé en Afrique du Sud. Il permet, dans une certaine mesure, de différencier une réaction sérologique vaccinale consécutive à une vaccination au vaccin **B 19** (cette vaccination induit principalement des anticorps de classe **IgM**), d'une infection par une *B. abortus* sauvage (cette infection induit principalement des anticorps de classe **IgG**).

### **11.3.1 Test d'agglutination sur lame ou test au rose Bengale ou épreuve à l'antigène tamponné :**

Ces tests mettent en évidence l'agglutination rapide de bactéries colorées avec du **rose Bengale** Il a été grandement amélioré par l'emploi d'un antigène tamponné acide qui a augmenté sa spécificité en effet l'activité agglutinante des **IgG1** bovines est facilitée à **pH** acide tandis que celle des **IgM** est fortement réduite Il s'agit d'un test simple, rapide à exécuter et offrant une grande sensibilité Il est principalement utilisé comme test de

dépistage. Classiquement, tous les sérums classés « **positifs** » par le test au **rose Bengale** sont ensuite testés par la technique de fixation de complément. Un sérum est considéré comme provenant d'un animal infecté lorsqu'il se révèle positif dans les deux tests. Cependant, malgré l'augmentation de sa spécificité due au **pH** acide, un grand nombre de réactions positives sont rencontrées chez des animaux non infectés, mais vaccinés au vaccin **B 19**.

### 11.3.2 Réaction de fixation du complément :

Ce test détecte principalement la présence des **IgG1**, mais également des **IgM**. Il est, de longue date, considéré comme le plus spécifique en matière de brucellose. Les réactions non spécifiques sont peu fréquentes dans ce test et, contrairement au test **SAW**, les titres d'anticorps qu'il révèle peuvent persister lorsque l'infection devient chronique. Lorsque les animaux sont vaccinés au vaccin **B19** avant l'âge de 6 mois, les anticorps disparaissent à l'âge adulte comme rapporté en Grande-Bretagne (**0,5 p. 100** d'animaux séropositifs à l'âge adulte), avec cependant des exceptions (**16 p. 100** d'animaux séropositifs à l'âge adulte, en Nouvelle-Zélande). L'interprétation du résultat de ce test est extrêmement délicate lorsque les animaux ont été vaccinés à l'âge adulte et la certification de l'absence de brucellose ne pourra se faire qu'après avoir répondu à certaines questions : le troupeau est-il un troupeau fermé ? Les avortons et les organes d'animaux présentant de hauts titres d'anticorps contiennent-ils des *Brucella*. L'infection reste-t-elle limitée au sein du troupeau ? Etc... Il est donc essentiel qu'en cas de vaccinations, celles-ci soient correctement documentées.

### 11.3.3 Épreuve de l'anneau ou Milk ring test :

Ce test met en évidence l'agglutination de bactéries colorées, qui remontent alors à la surface du lait, fixées à des globules gras. Ce test très sensible peut être utilisé sur des laits de mélange afin de détecter un troupeau infecté ou de maintenir son statut indemne de brucellose pour peu que la taille du troupeau ne soit pas trop grande. Des réactions faussement positives peuvent survenir en cas de mammite ou en cas de lactation débutante, lorsque le lait surit, ou en cas de vaccination récente au vaccin **B 19**.

### 11.3.4 ELISA anti-LPS :

Le test immun-enzymatique le plus utilisé est l'**ELISA** indirect qui vise à mettre en évidence la présence d'anticorps anti-LPS dans le sérum ou dans le lait. Il est plus sensible que le test de fixation du complément, mais moins spécifique que celui-ci. C'est le test qui

donne des résultats de la façon la plus précoce, mais à l'instar des autres tests sérologiques, il ne permet pas de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés.

#### **11.3.5 Test de polarisation de la fluorescence ou « Fluorescence polarization assay » :**

Ce test (« **FPA** ») a été récemment mis au point au Canada, il s'est révélé intéressant lors d'études de terrain principalement réalisées en Amérique latine. Il s'agit d'une technique simple, rapide pouvant être pratiquée au laboratoire ainsi que sur le terrain.

#### **11.3.6 Mise en évidence de l'immunité cellulaire :**

Une infection par *Brucella* induit une réponse immunitaire humorale mais également une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Il est possible de mettre cette dernière en évidence par une réaction d'hypersensibilité retardée suite à l'injection dans le derme d'antigènes de *Brucella*. La réaction d'hypersensibilité retardée se manifeste par une inflammation 48 à 72 heures après l'injection. Ce type de test diagnostique a été peu utilisé en routine. Cependant, sa haute spécificité a été démontrée à maintes reprises et s'il ne permet pas de dépister tous les animaux infectés, aucune réaction n'est observée chez des animaux sains. En pratique, même si le test cutané est un très bon test de dépistage (sensibilité variant de 56 p. 100 à 93 p. 100 suivant les groupes d'animaux testés) on le considère plutôt comme un excellent test complémentaire des approches sérologiques. Est à noter que l'intradermoréaction ne permet pas de différencier un animal infecté d'un animal vacciné (**B 19** ou **RB 51**).

### **12. TRAITEMENT :**

*Brucella* étant sensible aux antibiotiques, et notamment aux tétracyclines, le traitement de la brucellose bovine est théoriquement possible. Cependant, l'administration d'antibiotiques est rigoureusement interdite par les autorités sanitaires en raison de son coût prohibitif, du risque accru d'apparition de *Brucella* résistantes aux antibiotiques, dangereuses pour l'animal comme pour l'homme, ainsi que, l'absence de garantie « quant au statut infectieux de l'animal traité ».

### **13. PROPHYLAXIE :**

#### **13.1 Prophylaxie médicale :**

À la fin du **XIXe** siècle, Bang découvrait la cause de l'avortement infectieux de la vache. À la même époque, de nombreuses observations rapportent que les animaux malades ne développaient plus, par la suite, de signes cliniques de la maladie. Des lors, des essais de vaccination ont été conduits en utilisant des cultures bactériennes tuées ou vivantes. Les bactéries tuées ne conféraient qu'une faible immunité. Les vaccins à germes vivants étaient habituellement constitués de souches virulentes, administrées avant la gestation. Certains de ces vaccins permettaient d'éviter l'avortement, mais entraînaient fréquemment l'excrétion de la souche pathogène et ils étaient de ce fait responsables de l'infection d'animaux sensibles. La mise au point d'un vaccin satisfaisant a considérablement modifié le tableau avec la description par Buck, au début des années **1930** aux États-Unis, d'une souche de *B. abortus* de faible virulence, mais possédant de bonnes propriétés immunogènes. Du fait de l'importance reconnue de la vaccination dans le contrôle de la brucellose bovine, de nombreuses recherches ont été menées pendant des décennies en vue de développer un vaccin idéal dont les caractéristiques principales seraient les suivantes :

- Induction rapide d'une immunité de longue durée
- Absence (ou minimum) d'interférence avec le diagnostic sérologique
- Production et conservation aisées, et longue stabilité
- Absence (ou minimum) d'effets indésirables chez l'animal vacciné et innocuité totale pour l'homme. Il n'existe pas de critères normalisés permettant d'évaluer l'efficacité d'un vaccin anti-brucellique : effet, la race et l'âge des animaux, la souche bactérienne d'épreuve, la dose et la voie d'inoculation tant du vaccin que de la souche bactérienne d'épreuve, les signes cliniques ainsi que d'autres critères d'infections rapportés varient d'une étude à l'autre. Les résultats sont, dès lors, difficilement comparables, voire contradictoires. Enfin, l'atténuation de la plupart des souches vaccinales résulte d'une sélection empirique dont on ne maîtrise pas les bases moléculaires. Aussi, des réversions vers la virulence sont-elles toujours possibles.

### 13.2 Souche *B. abortus* strain 19 :

#### 13.2.1 Histoire et caractéristiques générales :

La souche « **B 19** » fut isolée encore virulente du lait d'une **vache de Jersey** en **1923** et abandonnée ensuite à température ambiante durant un an au laboratoire. Elle a été décrite par **Buck** en **1930**. La souche **B19** appartient au biotype 1 de *B. abortus*, mais présente des différences importantes par rapport à ce biotype, notamment au niveau de la sensibilité à l'acide **ut/ml** ainsi que par l'érythritol. Des études



récentes révèlent que la souche **B19** comporte une délétion dans le gène d'une enzyme impliquée dans le catabolisme de l'érythritol. Bien que le vaccin à germe vivant **Buck (B19)** ne corresponde pas au profil d'un vaccin idéal il n'en constitue pas moins le pilier de la vaccination anti brucellique des bovins et aucun autre vaccin n'a trouvé, à l'heure actuelle, une utilisation aussi large que la souche **B 19**. Plusieurs problèmes liés à l'utilisation de ce vaccin persistent cependant :

Vaccin **B 19** induit une réponse humorale semblable à celle observée après l'infection (primo paiement des anticorps **anti-LPS**) Les titres d'anticorps résiduels du sérum et du lait compliquent donc le sérodiagnostic des infections de terrain.

### **13.2.2 Le caractère infectieux pour l'homme l'effet abortif :**

L'efficacité du vaccin **B 19** est unanimement reconnue et elle a été démontrée chez les bovins en conditions contrôlées et lors de campagnes de prophylaxies de grande envergure menées dans le monde entier. Classiquement. **60 à 90 X 10** bactéries vivantes sont injectées par voie sous-cutanée après reconstitution du vaccin lyophilisé dans un volume de **5 ml**. Cependant. Administré de la sorte, le vaccin induit des réactions dans les épreuves de diagnostic sérologique d'autant plus durables que la vaccination est effectuée à un âge plus avancé, De plus. Des cas d'avortements ont été rapportés lorsque le vaccin est administré à des vaches en gestation. De même, ont été rapportées des infections vaccinales persistantes chez la vache laitière, avec excrétion de la souche vaccinale dans le lait et Chez le taureau avec excrétion de la souche vaccinale dans le sperme C'est pourquoi l'usage du vaccin **B 19** a été progressivement restreint aux jeunes femelles et interdit chez les mâles.

### **13.2.3 Mode d'administration, dose et âge de la vaccination :**

L'objectif de nombreuses études était de déterminer la meilleure voie d'administration et la dose de vaccin **B19** qui conféraient une immunité optimale tout en provoquant le moins d'interférence possible avec les épreuves du diagnostic sérologique La souche **B19** a été administrée par voie sous-cutanée (**SC**). Intradermique. Conjonctivale. Intra caudale, orale, intra vaginale et intra-utérine à des animaux d'âge (veau ou adulte) et d'état physiologique (gestant ou non) différents Lors d'études comparatives, **Manthéi** a montré que la persistance des anticorps d'origine vaccinale détectés par les épreuves sérologiques dépendait plus de l'âge et de la dose de vaccin que de la voie d'administration La dose minimale protectrice de **B19** administrée par voie SC

n'a pas été définitivement établie. En 1988 Nicolleti et al. ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative dans la réduction de la prévalence de la brucellose entre deux groupes de génisses provenant du même troupeau infecté, l'un étant vacciné par voie SC avec la dose classique (60 à 90 x 10<sup>9</sup> germes vivants), l'autre vacciné par voie SC avec une dose réduite (3 à 9 x 10<sup>9</sup> germes vivants). Ce vaccin à dose réduite provoque moins d'interférence sérologique et il est à l'heure actuelle le seul vaccin disponible dans l'Union européenne. L'avortement consécutif à la vaccination a été décrit comme étant un phénomène rare (moins de 1 p 100). L'excrétion de la souche vaccinale dans le lait pouvant se produire dans moins de 2 p 100 des cas. Durant une période de trois mois suivant la vaccination, certains auteurs ont préconisé l'administration par voie SC aux vaches gestantes d'une dose de 300 x 10<sup>9</sup> germes afin de diminuer encore les interférences sérologiques et d'éliminer les risques d'avortement induits par la vaccination tout en conférant le même degré de protection que l'administration par voie SC d'une dose de 3 à 9 x 10<sup>9</sup> germes. Ce protocole de vaccination confère un degré de protection supérieur à celui conféré par la vaccination à l'âge de 4 à 10 mois. Les résultats d'une étude menée par Crawford et aux États-Unis confirment l'hypothèse que des vaches gestantes de 84 à 135 jours. Au moment de l'administration d'une dose de 250 x 10<sup>6</sup> germes ont plus de risque d'être classées positives aux épreuves sérologiques. Cependant, aucun isolement de la souche vaccinale n'a été effectué au cours de cette étude. En Australie, Duffield et utilisant un protocole de vaccination similaire, ont pu isoler la souche B 19 chez 18 à 25 p 100 des animaux réagissant au test de fixation du complément. Plommet et Fensterbank ont préconisé l'utilisation de la voie conjonctivale et en ont donné les modalités d'utilisation optimales pour la vaccination des jeunes: deux administrations vaccinales de 3 à 9 x 10<sup>9</sup> germes vivants à 6 mois d'intervalle, la première vaccination étant effectuée chez le veau à l'âge de 6 à 10 mois. Soit par voie SC ou conjonctivale et la seconde vaccination étant effectuée par voie conjonctivale entre 10 et 16 mois d'âge. Ce même protocole est proposé en cas de vaccination d'urgence des vaches gestantes reconnues non encore infectées, en réduisant le délai entre les deux administrations vaccinales à 4 mois. Les résultats de ces études. Meilées depuis plus de 40 ans, suggèrent que les différents protocoles de vaccination avec le vaccin B 19 mise en œuvre lors de différentes campagnes de prophylaxie, offrent une grande efficacité et un très large éventail d'utilisation. Cependant, le but poursuivi par l'utilisation (ou l'interdiction) de la souche B19 doit toujours être clairement défini en fonction de la phase du programme de lutte envisagé à l'échelle territoriale (zonale ou régionale), nationale ou supranationale.

#### 13.2.4 Efficacité :

Traditionnellement. L'efficacité du vaccin **B 19** est mesurée en terme de protection (absence d'avortement) après épreuve, plutôt qu'en termes de risques de développer la brucellose (excrétion de la souche d'épreuve). Cette différence dans les critères d'efficacité est d'une importance épidémiologique capitale : en effet, des bovins vaccinés peuvent résister à l'infection (naissance d'un veau « cliniquement sain ») et par ailleurs disséminer la souche d'épreuve en quantité et pendant une durée telles que des animaux sensibles non vaccinés (et même dans une mesure moindre des animaux correctement vaccinés), ne résisteront pas à une infection trouvant sa source dans la population vaccinée. La proportion de génisses développant la brucellose augmentera parallèlement à l'augmentation du nombre de jours de gestation au moment de l'épreuve. Lorsque l'effet de la durée de la gestation est contrôlé dans une analyse de régression logistique, le risque de développer la brucellose pour des génisses gestantes vaccinées avec **108, 109 ou 101** germes est respectivement et de celui des génisses gestantes non vaccinée. L'isolement concomitant d'une souche sauvage et de la souche **B 19** sur des animaux vaccinés, mais préalablement infectés, illustre le fait que le sauvetage « en catastrophe » de troupeaux récemment infectés ne peut se concevoir sans l'élimination des animaux reconnus infectés. La vaccination apparaît dès lors comme une protection contre l'infection et non comme une protection contre l'avortement, si l'infection existe. Ces caractéristiques fondamentales de l'infection et de la vaccination ont permis à **Plommet** d'édicter « la règle d'exhaustivité » : vacciner tous les animaux de manière à « épuiser » le relais (relais-multiplication classique des maladies abortives) par **faecal B. abortus** pourrait se perpétuer.

#### 13.2.5 Interférence dans les épreuves sérologiques :

Le déterminant antigénique majeur des *Brucella* est porté par le **LPS** de la membrane bactérienne externe. Les épreuves sérologiques (agglutination lente, agglutination rapide sur lame à **pH** acide, fixation du complément, **ELISA**) détectent principalement les anticorps **anti-LPS**, qu'ils soient induits par une vaccination **B 19** ou une infection, nombreuses recherches portant sur la détection d'un isotype d'anticorps, ou l'utilisation d'un antigène de diagnostic capable de signer uniquement l'infection, n'ont pas encore clairement résolu les problèmes d'interférence sérologique. Les différences sont d'ordre quantitatif plus que qualitatif et elles sont fonction de nombreuses variables telles que l'âge au moment de la vaccination, la dose de vaccin **B 19**, la voie d'administration,

l'état de gestation ainsi que des valeurs intrinsèques des épreuves sérologiques et de l'interprétation des résultats. Selon **Verger**, le rêve de tout spécialiste de la brucellose, qui est de pouvoir enfin distinguer sans ambiguïté les animaux vaccinés des animaux infectés, n'est pas encore d'actualité.

### 13.3 Souche 45/20 :

La souche lisse *B. abortus*45 a été isolée d'une vache en **1922**, et la souche rugueuse qui en dérive a été obtenue après **20** passages chez le **cobaye**. Cette souche, appelée souche « **45/20** », est capable de protéger le cobaye et le bétail des infections par *Brucella*. Habituellement, le vaccin **45/20** est non-agglutinogène et n'induit pas de réponses sérologiques aux tests classiques d'agglutination et **rose Bengale**. Malheureusement, l'utilisation de la souche **45/20** comme vaccin vivant a révélé l'instabilité de cette souche et sa tendance à retourner à une forme lisse et virulente. Dès lors, un vaccin à bactéries tuées, additionné d'un adjuvant de l'immunité a été mis au point pour vacciner les bovins adultes, mais il provoque malheureusement la formation de granulomes inflammatoires importants et il n'est plus guère utilisé.

### 13.4 Souche *B. abortus* RB 51 :

Ce mutant stable, rugueux et résistant à la **rifampine**, provient de la souche virulente *B. abortus*. Cette souche n'exprime pas une grande partie de la chaîne **O** du **LPS**, de surface. Son intérêt réside dans le fait que le vaccin qui en dérive n'induit pas de réactions sérologiques lors des tests de dépistage de la brucellose. De plus, il est moins abortif que le vaccin **B 19** et pourrait être utilisé également chez la vache adulte. Ce vaccin « **RB 51** » peut néanmoins provoquer des placentites et des avortements chez le bovin. Il est reconnu comme le vaccin officiel contre la brucellose bovine aux **États-Unis** depuis **1996**, et dans la plupart des pays de l'Amérique latine depuis 2000. Bien que des études de terrain aient montré son utilité, son efficacité reste controversée.

### 13.5 Souche *B. suis* 2 :

La souche *B suis* 2 est une souche de laboratoire développée en **Chine**, qui a été atténuée par divers transferts dans des milieux de culture pendant plusieurs années. Cette souche lisse appartient au biotype 1 et elle est moins virulente que les souches **B 19** et **Revu 176**. Administrée per os la souche *B. suis* 2 (« **S2** ») ne provoque pas d'avortement

chez les vaches, les brebis, les chèvres ou les truies gravides et ne persiste pas dans les tissus des animaux vaccinés Depuis **1971**, des millions de doses de la souche ***B. suis 2*** ont été utilisées en République populaire de Chine comme vaccin oral pour la prévention de la brucellose chez les ovins, les caprins, les bovins et les porcs . Il a etc. montré que cette souche testait remarquablement stable après **5** séries de passage in vivo chez des cobayes. Des brebis gestantes, des chèvres et des truies <sup>6</sup>, Des doses orales comprises entre **5 et 50 x 10 CFU** sont protectrices chez les bovins, les ovins, les caprin et les porcs. Elles entraînent la production d'agglutinines dans le sérum, ainsi que celle d'anticorps fixant complément jusqu'à **9** mois. Avec une durée de protection de **1 à 5** ans chez les ovins et les caprins en Chine

***B.suis S2*** induit, chez les bovins, une réaction immunitaire ***anti-Brucella*** détectable par les tests sérologiques et les tests de mesure d'immunité à médiation cellulaire. L'utilisation de ce vaccin n'est pas. À l'heure actuelle, recommandée par l'**OIE**.

### **13.6 Prophylaxie sanitaire et medico-sanitaire :**

Tous les plans de lutte devant mener à l'éradication de la brucellose bovine sont basés sur les deux principes suivants assainissement des cheptels infects et protection des cheptels indemnes. L'unité fonctionnelle de la lutte contre la brucellose est le troupeau.

### **13.7 Organisation de lutte :**

Le passage d'une lutte individuelle à une lutte collective. Signifie le passage d'une politique de vaccination-assurance (protection contre les signes cliniques d'une maladie) à une politique de vaccination-éradication (obligatoire, mais limitée à la première phase du plan d'éradication) permettant de réduire la pression d'infection. L'objectif de la deuxième phase du plan sera, à terme, l'éradication de la maladie par l'emploi de mesures strictement sanitaires. Les programmes cl 'éradication de la brucellose mis en place dans les pays membres de l'Union européenne, par exemple, illustrent cette stratégie globale : prophylaxie principalement médicale (vaccination généralisée obligatoire), suivie d'une prophylaxie mixte. médicosanitaire (vaccination des jeunes uniquement) et enfin. prophylaxie exclusivement sanitaire (dépistage et abattage. avec indemnité, des animaux reconnus infectés ou exposés) lorsque le taux de prévalence est inférieur a 1 p.

Si chacun s'accorde sur ces principes généraux. Leur application est extrêmement délicate. Voire conflictuelle. En effet. Il n'y a pas de réponses simples et définitives aux différentes questions, que peuvent soulever l'application de ces principes généraux. C'est pourquoi.

L'objectif du plan de lutte, ainsi que le temps nécessaire pour atteindre cet objectif. Doivent être clairement déterminés. Les règles devant prévaloir pour le suivi du programme de lutte. De même que la structure et les moyens à dégager en vue d'une épidémiosurveillance garantissant la maîtrise des risques de réinfection. Doivent être également définis avant le début du programme.

### **13.8 Objectif contrôle ou éradication :**

Le programme de contrôle de la brucellose est un ensemble de mesures maintenant les coûts de la maladie à un niveau compatible avec la rentabilité économique (réduction du nombre d'avortements par une « **vaccination-assurance** ». par exemple Un programme d'éradication de la brucellose est un programme organisé en vue d'éliminer l'infection brucellique d'une région. Il doit être conçu de telle sorte qu'aucun nouveau foyer n'apparaisse (à moins qu'il ne fasse suite à l'introduction d'animaux infectés provenant d'une autre région) et que toute vaccination devienne inutile ou soit interdite à l'issue du plan il y a donc une différence significative de but de concept et de méthodologie entre ces deux objectifs. Le contrôle a pour but de réduire l'impact d'une maladie, l'éradication étant focalisée sur l'élimination d'un agent pathogène.

**Tableau 5 : Stratégies de lutte contre la brucellose bovine.**

Type de stratégie	Objectifs	Vaccination	Abattage des animaux présentant une réaction sérologique positive
Médicale Mixte (médiosanitaire) sanitaire	Réduire la prévalence Oui (couverture générale) (jusqu'à <b>1 p: 100</b> environ) Contrôle vers l'éradication Eradication et surveillance	Oui (couverture général) Ou (jeune', animaux) Exclue	Non Recommander Obligatoire

Au niveau conceptuel, la différence entre ces deux approches est affaire de durée : une éradication est limitée dans le temps, un contrôle se poursuivra indéfiniment L'éradication

n'est jamais la conséquence plus ou moins heureuse d'un contrôle. Dans un programme d'éradication vraie, les foyers confirmés devenant de moins en moins fréquents ou disparaissant, il y a une augmentation très importante des coûts liés à la recherche de l'infection résiduelle c'est-à-dire à l'épidémiosurveillance. La durée de cette dernière, après le dernier cas confirmé varie en fonction de l'étendue territoriale, du degré de sophistication et de la sensibilité du système de surveillance ainsi que de l'épidémiologie de la maladie considérée. La prévalence de la maladie donnera une image statique de la maladie à un moment donné (nombre de cas anciens ou récents) alors que l'incidence de cette maladie renseignera sur la dynamique de l'infection c'est-à-dire sur l'apparition de nouveaux cas pour une période considérée : il s'agit d'une mesure du risque d'infection.

#### **14. Dépistage :**

La Lutte collective organisée contre la brucellose bovine repose sur la détection des sujets infectés c'est-à-dire sur le dépistage. Le succès d'un programme de contrôle ou d'éradication est directement conditionné par la stratégie de dépistage. Le dépistage doit être tel que les animaux infectés soient identifiés avant qu'ils ne puissent en infecter d'autres. L'utilisation du vaccin **B 19** complique singulièrement le dépistage, car elle entraîne une production d'anticorps qu'il n'est pas aisé de différencier de celle induit par une infection. Dans le cas de la brucellose, la détection doit se faire avant que le « **relais-multiplication** » de la maladie que constitue l'avortement n'ait eu lieu. La stratégie de dépistage doit éviter les erreurs par défaut (non détection de sujets infectés) ainsi que les erreurs par excès (détection d'animaux non infectés ou vaccinés) faute de quoi, la lutte sera inutilement prolongée, la confiance des différents acteurs perdue et le coût économique considérablement augmenté. La brucellose est une maladie asymptomatique pendant des temps longs. Les jeunes femelles peuvent être infectées in utero ou à la naissance et ne développer des symptômes que lors d'une gestation ultérieure, à savoir un avortement au sixième ou septième mois de gestation, la naissance d'un veau cliniquement sain mais infecté. C'est pourquoi le dépistage sera basé sur la mise en évidence indirecte de l'infection. En brucellose bovine la trace sérologique ou allergique d'une infection peut être recherchée.

## **15. Valeur des épreuves sérologiques :**

Les épreuves (ou tests) sérologiques permettent de classer les animaux en animaux « négatifs » ou animaux « positifs » pour le test considéré mais pas en animaux indemnes ou infectés. Ce sont des épreuves de détection et elles ne peuvent pas en tant que telles, être considérées comme ayant une valeur diagnostique définitive. Leur résultat devra être confirmé puis interprété en termes de valeur prédictive (négative ou positive) à la lumière de différents critères épidémiologiques. Ces derniers prennent en compte différentes données : incidence et prévalence de la maladie, nombre de foyers en évolution, contacts directs ou indirects, vaccination, abattage partiel ou total, identification d'un germe responsable de réactions sérologiques faussement positives, etc. En d'autres termes, il y a lieu d'apprécier le résultat sérologique en terme de probabilité d'infection (ou d'absence de celle-ci) lors de l'enquête épidémiologique.

### **15.1 Test de dépistage :**

Le dépistage de la brucellose doit être efficace, fiable, accepté par les éleveurs et demeurer relativement économique. On espère ainsi atteindre, rapidement et économiquement, le maximum d'animaux infectés. Une sensibilité trop faible du test conduit au non-reconnaissance de nombreux animaux infectés. Une spécificité réduite augmente le nombre d'analyses de diagnostic et donc le coût global du dépistage. Le test de dépistage a pour fonction de réduire la population initiale (tout bovin femelle de plus de 12 mois) à une population où la prévalence relative de la brucellose sera plus élevée. L'identification d'une population à prévalence relative plus forte, par le test de dépistage, conduit à une valeur prédictive positive plus élevée. L'élimination d'animaux « faussement positifs » en est diminuée d'autant de même que les coûts qui y sont associés.

### **15.2 Test de contrôle :**

Le test de contrôle est appliqué uniquement sur les échantillons reconnus positifs au test de dépistage. Sa spécificité est difficile à évaluer car il faut disposer de sérums provenant d'animaux indemnes, mais classés positifs au test de dépistage. Les tests ont en général une spécificité moindre sur cette nouvelle population que sur la population de départ. Sa sensibilité est évaluée par l'examen bactériologique post mortem des animaux classés « positifs » aux tests de contrôle et reste en général élevée. Si deux (ou plusieurs)



tests de contrôle sont utilisés, le résultat peut être interprété soit en série, soit en parallèle. La méthode d'interprétation affecte la sensibilité et la spécificité du programme de testage. Une interprétation « en série » signifie que le sérum n'est considéré comme celui d'un animal réellement infecté que lorsqu'il est positif aux différents tests de contrôle : cela donne une stratégie de testage avec un haut niveau de spécificité. Une interprétation « en parallèle » signifie que le sérum n'est considéré comme celui d'un animal réellement infecté que lorsqu'il est positif dans l'un ou l'autre test de contrôle : cela donne une stratégie de testage avec un haut niveau de sensibilité, mais diminue la spécificité. L'interprétation en série n'a pas, en général, un effet négatif sur la sensibilité de la méthode de la même amplitude que celle de l'effet négatif de l'interprétation en parallèle sur la spécificité de la méthode. Il n'existe pas encore de test de diagnostic sérologique de la brucellose bovine ayant toutes les qualités de sensibilité, de spécificité, de simplicité d'exécution et de coût réduit qui permette de différencier sans équivoque un animal vacciné d'un animal infecté. Le vaccin **RB 51** pourra résoudre (en partie) ce problème si son efficacité dans des essais terrain est démontrée au cours des prochaines années. Aussi devons-nous avoir recours, en attendant, à une combinaison de différents tests. Dans le cadre d'un programme de lutte, il convient de disposer d'un test de dépistage acceptable d'un point de vue économique, ayant une bonne sensibilité et offrant les meilleures chances de détecter la maladie. La détection de l'infection se fait au prix d'un certain nombre de faux résultats positifs, dont la proportion augmentera au fur et à mesure que la prévalence de la maladie diminuera. La stratégie de testage doit donc être adaptée aux différentes phases du programme. L'utilisation d'un ou plusieurs tests de contrôle améliore la valeur prédictive positive. Une interprétation en série des tests de contrôle améliore la spécificité de la méthode et réduit le nombre d'animaux considérés à tort comme positifs, et donc inutilement éliminés.

### **16.Éradication de la brucellose :**

Peu de pays dans le monde ont atteint cet objectif. De plus, de par la définition même de territoire indemne, le *Code zoosanitaire international* de l'OIE reconnaît que des foyers résiduels d'infection peuvent persister en territoire indemne. Enfin, une infection à *B.abortus* peut persister chez les animaux sauvages. C'est pourquoi ces définitions sont des définitions fonctionnelles, autorisant les transactions internationales, mais un territoire déclaré « officiellement » indemne n'en est pas pour autant « biologiquement » indemne. Dès lors, les mesures d'épidémiologie devront être mises en œuvre, maintenues,

voire renforcées, de telle sorte qu'il n'y ait pas résurgence de brucellose en territoire indemne.

### **17. Recommandations générales :**

La suppression des barrières sanitaires et la libéralisation des échanges dans le cadre des accords de l'Organisation mondiale du commerce, nécessitent une harmonisation des statuts sanitaires afin d'écartier les risques de contamination d'un pays à l'autre. C'est la raison pour laquelle tous les pays souhaitant valoriser leur production bovine devraient s'engager dans la mise en œuvre et la planification d'un programme de lutte contre la brucellose. Les recommandations quant aux mesures d'accompagnement d'un tel programme portent sur la communication, l'encouragement et le suivi des actions auxquelles les différents acteurs de la lutte auront adhéré. Dans un pays ne disposant que de services vétérinaires aux moyens limités et où l'infrastructure des laboratoires vétérinaires fait défaut, l'examen clinique des animaux peut permettre une première estimation de l'étendue du problème. En effet, dans des conditions tropicales, plus de 60 p. 100 des animaux présentant des hygromas possèdent des anticorps détectables dans le sérum ou le lait Dans un tel contexte, le principal outil de lutte contre la brucellose sera la vaccination pour laquelle le vaccin de référence reste à l'heure actuelle le vaccin B 19 Dès lors, l'effort principal devra porter sur la mise en œuvre de mesures visant à protéger par une vaccination efficace le plus grand nombre de bovins à risques.

# **CHAPITRE**

## **III :**

**BRUCELLOSE OVINE**

**ET CAPRINE**

## **01. DEFINITION :**

La brucellose des petits ruminants est une maladie infectieuse, contagieuse, d'allure chronique, largement répandue dans le monde et dont l'agent causal est *Brucella melitensis* (biovar 1,2 et 3). L'avortement est le principal symptôme de la brucellose des petits ruminants, mais elle provoque aussi des rétentions placentaires, des orchites, des épидidymites et plus rarement des arthrites. Cette maladie est considérée comme une zoonose majeure et, de temps à autre elle constitue l'un des problèmes les plus graves auxquels soient confrontés les services vétérinaires des pays infectés. En effet la brucellose humaine est toujours en relation directe avec la présence de la brucellose animale et la prévention de l'infection chez l'homme passe obligatoirement par l'éradication de la maladie chez les animaux.

## **02. HISTORIQUE :**

La plus ancienne description de la maladie chez l'homme remonterait à Hippocrate (460-377 avant notre ère). Elle était alors considérée comme un processus pathologique humain, fébrile, cliniquement difficile à diagnostiquer, avec un tableau clinique atypique par rapport aux maladies avec lesquelles on la confondait, notamment les fièvres typhiques ou paratyphiques et le paludisme. Au XVII<sup>e</sup> siècle, de nombreux avortements furent décrits chez le bétail européen. En Espagne, par exemple, les observations colligées par la « Mesta » relatives aux maladies des ovins étaient correctes, bien que les avortements rapportés aient été attribués à l'ingestion de plantes toxiques.

Ces rapports précisaient aussi que ces avortements provoquaient des pertes économiques importantes. *B. melitensis* devait alors figurer parmi les nombreux agents infectieux que l'on connaît actuellement dans ce pays. Au cours des XVIII<sup>e</sup> et XIX<sup>e</sup> siècles, notamment pendant la deuxième moitié de ce dernier, plusieurs auteurs décrivent les symptômes de la maladie chez l'homme. Ce fut Marston, médecin de la marine anglaise à Malte qui en 1859, identifia cette maladie comme une entité nosologique à part entière, la distinguant des autres processus fébriles avec laquelle elle était confondue. Cependant, la cause en était encore inconnue et elle était attribuée à des « miasmes » ou à des causes aussi étranges que « des émanations de matière organique en décomposition » « la putréfaction interne de l'organisme » le froid des micro-organismes non spécifiques, etc. À la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, la situation sanitaire des troupes anglaises en transit sur l'île de Malte vers les Indes, réclamait la présence de nombreux médecins dans les hôpitaux militaires pour

soigner les soldats atteints par cette maladie, qui problème de santé publique) Mais *B. melitensis* aussi été isolé à partir de chèvres dans les régions occidentales d'Argentine et dans des zones limitées du Chili et du Paraguay. On dispose de très peu d'informations pour ce qui est de l'Afrique et du sous-continent indien. Les autres régions du monde, comme l'Amérique du Nord le Sud-est asiatique, l'Australie, la Nouvelle -Zélande et les îles du Pacifique, son indemnes de brucellose des petits ruminants.

### **03.IMPORTANCE ÉCONOMIQUE :**

La brucellose des petits ruminants occasionne de grandes pertes économiques, difficiles à chiffrer en raison des différents facteurs qui interviennent dans leur estimation dans les pertes directes, on inclut celles dues à la mortalité périnatale élevée, à la mortalité des femelles, aux baisses de production (viande, lait: etc...) tandis que dans les pertes indirectes on comprend la dépréciation des femelles ayant avorté, le coût de la main d'œuvre, les soins vétérinaires ainsi que le manque à gagner lié à l'arrêt de la commercialisation ou des exportations, etc....

Il faut aussi ajouter à cela les coûts de mise en place des programmes de contrôle ou d'éradication qui comprennent les indemnités aux éleveurs le fonctionnement des Services vétérinaires les coûts de la vaccination, etc.

### **04.ÉPIDÉMIOLOGIE :**

#### **04.1 Espèces affectées :**

Chaque espèce de *Brucella* a son propre « hôte principal » ou « habituel ». Ceux de *B. melitensis* sont les ovins et les caprins. Cependant, *B. abortus* et *B. suis* ont été isolés assez fréquemment de petits ruminants et, pareillement, *B. melitensis* été retrouvé chez d'autres espèces domestiques, notamment les bovins (dans ses régions où la maladie est enzootique) dès lors que les petits ruminants et d'autres espèces animales sont amenés sur des pâturages communs, même à des périodes différentes.

#### **4.2 Sensibilité :**

Il existe des variations dans la réceptivité des animaux, tant chez les ovins que chez les caprins, du fait de la race et de l'âge. Le pourcentage des animaux infectés augmente avec les années, ce qui fait que la brucellose peut être considérée comme une maladie des adultes. Il semble que la sensibilité individuelle s'accroisse avec l'âge, mais plus un animal vit longtemps dans un milieu infecté, plus grands sont les risques qu'il a de s'infecter.

L'influence de l'alimentation et de l'hérédité sur l'épidémiologie de la maladie sont peu connues.

## **05. Agent pathogène :**

### **05.1 Morphologie et pouvoir antigénique :**

Le genre *Brucella* comprend des bactéries de formes arrondies (cocci, coccobacilles ou bacilles courts) de 0,5 à 0,7 mm de diamètre. Ils ne prennent pas la coloration de Gram (« Gram- ») sont immobiles et ne sporulent pas. À l'examen microscopique, ils apparaissent comme des éléments isolés, ou parfois groupés par paire, ou en courtes chaînettes ou en petits amas. Le lipopolysaccharide (LPS) des espèces de *Brucella* en phase S contient un lipide A, des acides gras caractéristiques (sauf l'acide 3-hydroxymyristique) et des chaînes latérales O (O-PS) formées d'homopolymères de N-formyl-perosamine avec des liaisons  $\alpha$ -1,3 et  $\alpha$ -1,2 (dans le rapport de 1 pour 4 dans le cas de *B. melitensis*). Cet homopolymère est constitué approximativement de 100 résidus de 4,6-dideoxy-4-formamide-8-D-mannose et se révèle d'un grand intérêt non seulement du point de vue diagnostique ou prophylactique, mais aussi pour ce qui est de l'évaluation de la virulence et du pouvoir pathogène du genre *Brucella*. Les différences entre les liaisons de l'homopolymère O-PS conditionnent la forme des épitopes du LPS. Le type A dominant (A pour *Brucella abortus*) est constitué de 5 résidus consécutifs unis par des liaisons  $\alpha$ -1,2 tandis que le type M dominant (M, pour *Brucella melitensis*) est déterminé par 4 résidus avec des liaisons  $\alpha$ -1,3. Les souches qui réagissent vis-à-vis des anticorps dirigés contre les deux épitopes A et M, produisent les deux types de LPS en proportion équivalentes. La présence dans le LPS de 4-amino-4,6-dideoximanose est, en outre, responsable de la réactivité croisée observée avec le LPS d'autres bactéries telles que *Escherichia coli*, *E. hermanni*, *Salmonella*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* et *Yersinia enterocolitica*. Les déterminants antigéniques impliqués dans le sérotypage avec des anticorps polyclonaux se trouvent aussi dans l'O-PS du LPS. Jusqu'à présent, les souches de type S se classent en trois catégories : A+M-, A-M+ et A+M+ selon les résultats de l'agglutination sur lame avec les anticorps polyclonaux mono spécifiques anti-A et anti-M. Grâce aux anticorps monoclonaux, il a été possible de décrire trois types d'épitopes de l'O-PS : A, M, et C. Ces derniers sont, partagés également entre les souches à dominance A ou M, et ils ont été sous-divisés, récemment, sur la base de l'avidité de leur liaison vis-à-vis des souches du biovar 1 de *B. abortus* ou de *B. melitensis* (à dominance A et M) dans un test ELISA, ainsi que sur la base de l'étude de leurs réactions antigéniques croisées avec *Y. enterocolitica*.

Au total, cinq spécificités épitopiques ont été décrites : C(M>A), C(M=A), C/Y(M>A), C/Y(M=A) et C/Y(A>M) Les anticorps monoclonaux ont démontré que les types C étaient spécifiques des *Brucella*, alors que les types C/Y correspondaient aux réactions antigéniques croisées avec *Y. enterocolitica*. La structure du LPS des souches en phase R est à peu près la même que celle des souches en phase S excepté que la chaîne O est absente ou réduite à quelques résidus. Dans ces cas la spécificité est conditionnée par les noyaux polysaccharidiques. D'autres antigènes superficiels ou cytoplasmiques protéiques en général ont aussi été décrits, certains sont reconnus par le système immunitaire au cours de l'infection et peuvent donc être utilisés dans le diagnostic comme c'est le cas de « l'haptène natif » (HN) ou du polysaccharide B 20.

### **05.2 Culture :**

En **48 à 72 h**, cultivées sur gélose les *Brucella* forment de petites colonies de **0,5 à 1 mm** de diamètre rondes convexes avec une surface brillante Les colonies de *B. melitensis* sont de type lisse « **S** » comme celles de *B. abortus* et *B. suis* tandis que les colonies de *B. ovis* et *B. canis* sont de type rugueux « **R** » Les milieux de culture liquides favorisent le passage de la phase **S** en phase **R** ainsi que l'apparition de formes intermédiaires « **I** » Sources et transmission de l'infection La contagion se fait toujours à partir d'un animal malade ou porteur de germe qui contamine directement un animal sain, ou excrète une grande quantité de *Brucella* dans le milieu extérieur.

### **05.3 Sources :**

Au moment de l'avortement, le placenta et son contenu sont les principales sources d'infection pour l'homme ou pour l'animal Le liquide allantoïdien peut contenir jusqu'à **1010 UFC/ml** (UFC : unités formant colonies), et la concentration dans les cotylédons placentaires varie de **10<sup>11</sup> à 10<sup>13</sup> UFC/g**. De même, le fœtus né à terme est aussi fortement infecté L'excrétion de *B. melitensis* dans les écoulements vaginaux de chèvres ayant avorté peut durer plus d'un an, mais de façon irrégulière et intermittente. Chez elles, une excrétion abondante peut durer trois mois 2 tandis que chez les brebis, elle dure à peine deux mois et elle se produit en quantité moindre. L'urine peut se contaminer lors du passage par la vulve. L'invasion de la mamelle par les *Brucella* garantit sa persistance chez les femelles des générations suivantes.

#### **05.4 Transmission :**

La brucellose est une maladie vénérienne *B. melitensis* peut occasionner des orchites et des épидидymites chez les boucs et les béliers. On retrouve le germe dans le sperme de 20 p 100 voire plus des béliers présentant des anticorps vis-à-vis de ce germe. Elle peut aussi être transmise mécaniquement, lorsque le mâle monte des femelles saines après avoir sailli des femelles infectées qui excrètent la bactérie dans le flux vaginal. Enfin bien qu'à un degré moindre les fèces, la sueur et le jetage des animaux malades ou porteurs de germes représentent aussi des sources de dissémination.

##### **05.4.1 La contamination directe :**

Par *B. melitensis* se fait au contact des fœtus et des annexes fœtales soit à travers les muqueuses de l'appareil digestif ou respiratoire, soit à travers la conjonctive. L'infection à travers la peau est moins fréquente car elle n'est possible que s'il existe de graves lésions cutanées. Les chèvres peuvent se contaminer par voie digestive lorsqu'elles lèchent et que leur pelage est lui-même contaminé par le sol. L'inhalation est une voie de grande importance dans les enceintes fermées ou sur les terrains secs car le passage des troupeaux soulève des nuages de poussière infectée ce qui favorise la pénétration par voie respiratoire.

##### **05.4.2 La contamination indirecte :**

Se produit par ingestion d'aliments ou d'eaux contaminés par le *Brucella* sur des pâturages communs.

##### **05.4.3 La transmission verticale :**

La persistance de *Brucella* chez les animaux nouveau-nés a été observée tant chez les animaux de laboratoire que chez des agnelles qui sont nées de mères malades ou qui ont tété du lait contaminé. Jusqu'à l'âge adulte, c'est-à-dire jusqu'à la première gestation, ces animaux n'élaborent pas d'anticorps spécifiques (réaction négative en sérologie) tant que n'est pas développé le processus pathologique. Ce phénomène a été peu étudié chez les ovins et il n'est pas connu chez les caprins. La disparition spontanée de la maladie (auto-guérison)



dans un troupeau d'ovins est due au fait que (en général les brebis n'avortent qu'une seule fois et que le nombre d'avortements dans ce troupeau diminue donc progressivement jusqu'à disparaître complètement. Cependant une importante excrétion de *Brucella* a lieu pendant la mise-bas et ce peut démarrer un nouveau cycle d'avortements tous les 4 ou 5 ans à l'occasion de l'introduction de jeunes femelles primipares dans le troupeau.

### **5.5 Facteurs favorisant la diffusion de la maladie :**

Les facteurs qui favorisent la diffusion de la brucellose des petits ruminants sont les suivants

.échanges commerciaux d'animaux sur pied, sans contrôle sanitaire, cela concerne notamment l'introduction, dans des exploitations, de «moutons ou de chèvres (achetés dans le même pays ou dans un autre)

.introduction de femelles malades en gestation, avortent ou mettent bas des agneaux (mourant souvent très vite) et qui contaminent le milieu extérieur.

.prêt de géniteurs malades, coutume qui est encore à l'origine de nombreux cas de brucellose des petits ruminants, même si la monte naturelle se réduit de nos jours aux élevages extensifs .

- acquisition de jeunes animaux infectés sans symptômes.

.Coexistence d'animaux malades et d'animaux sains dans des enceintes fermées spécialement lors de la mise bas .

• fêtes, concours expositions d'une façon générale tout regroupement d'animaux sans garantie sanitaire constitue un risque sérieux de diffusion de la maladie.

• disparité des réglementations zoosanitaires des pays qui sont plus ou moins exigeants en ce qui concerne les conditions d'importation L'équilibre « *Brucella-hôte* » joue un grand rôle dans la pathogénie et l'épidémiologie de la maladie du fait des facteurs spécifiques à chacune des deux composantes de cet équilibre. Cela peut expliquer des phénomènes biologiques tels que la résistance de certains animaux, son caractère autolimitant chez d'autres animaux l'état de maladie latente ou l'auto guérison Cela peut aussi expliquer que, en dépit de sa contagiosité la maladie n'ait pas une prévalence élevée dans des pays qui, pourtant, ne mettent en œuvre aucune mesure sanitaire pour la contrôler. L'avortement constitue la principale modification de cet équilibre La contagion peut se faire selon les modalités suivantes

- par contact direct dans une même exploitation entre animaux infectés et animaux sains
- par la dissémination de *B. melitensis* par les troupeaux transhumants dans les régions montagneuses, comme c'est le cas dans de nombreux pays où ce système d'élevage existe
- par le regroupement des animaux en des points géographiques précis (oasis, points d'eau, etc.) dans les systèmes nomades ou semi-nomades
- par l'intermédiaire des animaux sauvages naturellement infectés (absence d'animaux domestiques).

## 06.PATHOGÉNIE :

*B. melitensis* pénètre dans l'organisme par les voies digestive, nasopharyngée et/ou transcutanée, puis migre par voie lymphatique jusqu'aux nœuds lymphatiques régionaux, où elle se multiplie. Cette phase de colonisation locale et régionale correspond à la période d'incubation de la maladie dont la durée varie de **14 à 180** jours. Les *Brucella* sont des bactéries à localisation et multiplication intracellulaire facultative. Elles peuvent se multiplier dans les milieux organiques extracellulaire mais aussi dans les macrophages et les leucocytes polynucléaires après avoir été phagocytées. Les souches virulentes peuvent survivre très longtemps à l'intérieur des cellules, où elles sont protégées des anticorps et des autres mécanismes de défense ainsi que des substances thérapeutiques. Des nœuds lymphatiques régionaux, les brucelles passent dans le canal thoracique pour rejoindre la circulation sanguine et différents organes ou tissus notamment les articulations, le placenta et l'utérus. Le placenta constitue le lieu de prédilection de la multiplication de ces bactéries car les cellules du chorion sécrètent de nombreuses hormones qui stimulent leur croissance. C'est ainsi que dans les brucelloses aiguës jusqu'à **85 p.100** des bactéries présentes dans l'organisme infecté se localisent dans les cotylédons, les membranes placentaires et l'allantoïde. Elles sont aussi capables de traverser le placenta pour coloniser la caillette, la rate et les poumons du fœtus. Chez les femelles en gestation, *B. melitensis* se multiplie dans le cytoplasme des trophoblastes du chorion. À l'inverse de ce qui se passe pour d'autres bactéries intracellulaires qui provoquent des avortements et que l'on rencontre dans les phagosome ou libres à l'intérieur du cytoplasme, *B. melitensis* se multiplie dans le réticulum endoplasmique rugueux. La virulence des *Brucella* dépend de plusieurs facteurs dont on connaît mal pour l'instant les composants cellulaires qui facilitent les diverses

phases du parasitisme depuis l'adhérence à la cellule jusqu'à son invasion Par ailleurs c'est l'incapacité des phagocytes (macrophages ou leucocytes neutrophiles) à éliminer les souches virulentes qui permet la dissémination de la bactérie du point d'infection initial à tout le système monocyte-macrophage, au placenta, à l'utérus et à la mamelle. Comme chez toutes les bactéries « Gram- » le LPS contribue à la virulence, de telle sorte que les mutants des souches **R** dépourvus des chaînes latérales O sont moins virulents que les souches **S**. Chez *B. melitensis* le LPS possède une action différente (qualitativement et quantitativement) de celle de l'endotoxine des entérobactéries puisqu'il n'est pas pyrogène qu'il n'active pas le complément de façon significative et qu'il n'est pas toxique pour les macrophages. Pendant longtemps, la présence de « i-érythritol (un sucre à 4 atomes de carbone) dans le placenta de certaines femelles a été considéré comme favorisant la multiplication des brucelles ainsi que leur virulence et leur pouvoir abortif. En effet, un sucre a été retrouvé dans le placenta de vaches, brebis, de chèvres et de truies en gestation alors qu'il est absent chez la femme et les femelles de rongeurs. Le fait que les brucelles puissent également coloniser le placenta de ces dernières espèces laisse toutefois planer un doute sur le rôle de ce sucre dans la pathogénie de la maladie.

## **07.SYMPÔMES :**

Après une incubation dont la durée varie de **140 à 180** jours, la brucellose touche aussi bien les femelles que les mâles. Chez les mâles, elle entraîne des orchites et de l'épididymite, tandis que chez les femelles, elle peut se présenter sous une forme chronique et asymptomatique, caractérisée par une colonisation du système lymphoréticulaire, ce qui n'est pas sans répercussions épidémiologiques. Après une première réaction immunitaire, les symptômes et les anticorps disparaissent, les animaux devenant pendant un certain temps des porteurs asymptomatiques du germe, dont la détection est difficile par les techniques de diagnostic sérologiques classiques. Les femelles gestantes sont très sensibles à l'infection, et l'avortement en est le principal symptôme. Cliniquement, cet avortement n'est pas différent de ceux dus à d'autres agents infectieux ce qui implique de recourir au laboratoire pour porter un diagnostic différentiel. En général, les avortements apparaissent massivement dans les troupeaux au cours de la première et de la deuxième année d'infection par *B. melitensis*. Ils touchent principalement les femelles primipares pendant le dernier tiers de la gestation. Le pourcentage des brebis et des chèvres affectées est habituellement compris entre **40 et 90 p. 100** et dans **10 à 15 p. 100** des cas, les avorter

peuvent se produire plusieurs fois chez le même animal. Certaines femelles infectées peuvent mettre bas, mais dans ce cas la mortalité périnatale est élevée : les nouveau-nés sont particulièrement **Mraiblis** et meurent dans les 24 h qui suivent la naissance. Parfois et en dépit de l'infection, ils peuvent survivre et les conséquences épidémiologiques de ces cas sont l'objet d'une controverse étant donné ces agneaux, bien que guéris, peuvent devenir des porteurs chroniques du germe, les femelles des troupeaux dans lesquels la brucellose évolue de façon chronique ont moins tendance à avorter. La maladie n'est alors pas extériorisée sous forme d'avortements et sa présence ne se manifeste, entre autres, que par la présence de cas de brucellose chez les êtres humains qui ont été en contact avec des animaux infectés ou qui « t consommé des produits contaminés.

## **08.LÉSIONS**

### **08.1 Lésions macroscopiques :**

Rétentions placentaires et les endométrites sont «ses chez les brebis, mais fréquentes chez les chères Les lésions de l'utérus chez les femelles ayant sont celles d'une métrite suppurative avec suffusions hémorragiques au niveau des cotylédons et de l'endomètre Dans le placenta, on peut observer une infiltration gélatineuse jaunâtre et de fausses membranes fibrineuses qui peuvent être soit localisées à une partie du placenta soit généralisées.

### **08.2 Lésions microscopiques :**

Au niveau de l'endomètre et des cotylédons on note des zones de nécrose avec une infiltration abondante de leucocytes neutrophiles Les cellules de l'épithélium entre les cotylédons présentent une vacuolisation cytoplasmique, ainsi qu'un petit nombre de neutrophiles et quelques rares macrophages et lymphocytes. Sur les fœtus, les lésions les plus caractéristiques s'observent dans les poumons, où l'on note une infiltration alvéolaire et interstitielle diffuse, un œdème interlobulaire et pleural ainsi qu'une congestion vasculaire. Dans la rate on constate une hyperplasie réticuloendothéliale diffuse et multifocale.

## **09.RÉPONSE IMMUNITAIRE :**

La plupart des travaux sur l'immunité vis-à-vis de la brucellose ont été réalisés sur le modèle murin en utilisant comme critère de protection la réduction en un temps déterminé du nombre d'unités formant des colonies isolées à partir d'un gramme de la rate ou du foie des animaux éprouvés (UFC/g) La stimulation de l'immunité est surtout assurée, chez les espèces de *Brucella* en phase **S** par le **LPS** et plus particulièrement l'**O-PS**, même si l'intervention d'autres antigènes notamment de nature protéique, n'est pas exclue pour autant. Ainsi, des souches en phase **R** (auxquelles manquent l'**O-PS**) confèrent-elles une protection à des souris vis-à-vis d'une épreuve virulente avec une souche en phase **S** Depuis peu les protéines ribosomiques sont considérées comme importantes au plan immunologique en ce sens qu'elles stimulent les réponses humorale et cellulaire et confèrent une certaine protection vis-à-vis de souches d'épreuve Cependant les composants responsables de cette activité n'ont été identifiés que récemment comme étant les protéines ribosomiques **L7/L12** qui interviennent dans la réponse cellulaire<sup>1</sup> Les substances qui stimulent l'hypersensibilité de type retardé telle qu'elle est déclenchée après inoculations de « **brucellines** » ou de protéines de fusion sont aussi capables de conférer une protection vis-à-vis de *Brucella* ce qui permet de les considérer comme des candidats potentiels pour la production de vaccins.

## **10. DIAGNOSTIC :**

Tout avortement doit être considéré comme suspect de brucellose des petits ruminants et il est impératif de recourir au laboratoire qui du reste est l'axe central de tout programme sanitaire.

### **10.1 Diagnostics clinique et épidémiologique :**

Les diagnostics clinique et épidémiologique ne peuvent apporter qu'une présomption L'avortement dans la phase terminale de la gestation et la mortalité postnatale sont les principaux signes de la brucellose chez les petits ruminants En outre la maladie présente une période d'incubation longue ainsi qu'un caractère latent marqué si bien que l'animal infecté peut, pendant un temps assez long ne pas manifester de symptômes ni présenter de réaction positive au diagnostic sérologique Avorton et annexes fœtales

retrouvés au pâturage (cliché Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección general de Salud Pública, Espagne).

### 10.2 Diagnostic différentiel :

Les techniques du diagnostic de laboratoire sont la *basées* des programmes de lutte Elles sont choisies selon en fonction de leur spécificité, leur sensibilité leur simplicité d'exécution leur fiabilité et leur cout

### 10.3 diagnostic de laboratoire :

Les prélèvements pour le diagnostic de laboratoire *sont* :

*Après* un avortement : le fœtus et les annexes fœtal ternies, les lochies et les écoulements utérins ou vaginaux, le lait Lors d'une autopsie : les nœuds lymphatiques, la rate, la moelle osseuse, les testicules ou les épидидymes .

### Mise en évidence Agent pathogène

### L'Examen direct au microscope de prélèvement

Après coloration directe par les méthodes basiques (**Gram, Stamp** ou **Kôster**) est rapide mais il ne permet qu'une suspicion mais en cas de contamination bactérienne des prélèvements l'inoculation à des souris ou des cobayes est recommandée afin de permettre un isolement intérieur de *B. melitensis* à partir de divers organes et en particulier de la rate *isolement et l'identification de B. melitensis* permet de poser un diagnostic définitif mais de rappeler qu'il présente un risque pour le personnel du laboratoire qui doit être hautement qualifié devra donc être conduit dans des installations équipées de locaux de sécurité de **SERVAU P-3** ainsi que de tous les autres dispositifs prévus par les textes réglementaires *B melitensis* (biovar 1, souche **16M**) cultive en présence de fuschine basique de thionine (**20 ug/u de benzylpénicilline (3 Hg/ml)** alors que la souche **Rev 1** cultive en présence de **streptomycine 2,5 à 5 mg/ml**) et possède une activité uréase ainsi qu'un pouvoir pathogène réduit pour les cobayes et les souris les milieux de culture les plus fréquemment employés sont la gélose **Albimi** et la gélose **tryptiofte- soja** avec **5 p 100** de sérum fœtal bovin. Les milieux sélectifs sont celui de **Kudzas** et **Morse** et celui de **Farrell** Les formes des colonies le mode de coloration les tests de l'oxydase et de l'uréase ainsi que l'agglutination avec un sérum mono spécifique **anti-S** ou **antis** permettent de déterminer si

le micro-organisme en question fait ou non partie du genre *Brucella*. Pour l'identification précise il convient de recourir à d'autres techniques comme les besoins en **C02** la production d'**H2O** la croissance en présence de colorants (fuschine basique et thionine aux concentrations de 1 / 25 000, 1 / 50 000 et 1 / 100 00) ou l'agglutination par des sérums mono spécifique préparés sur lapin (**anti-A,anti-M et anti-g**) (**tableau 4**)

**Tableau 4 : Principales caractéristiques de *B. melitensis* utilisées lors de l'identification**

Caractéristiques	<i>B.melitensis</i> biovar		
	1	2	3
-besoin en co2	-	-	-
-production de H2S	-	-	-
Croissance en présence			
-de thionine	+	+	+
-de fuschine Agglutination b	+	+	+
-Anti- A	-	+	++
-Anti-M	+	-	+
-Anti- R	-	-	-

A : A la concentration de **20ug/ml** en gélose

b : sérums mono spécifique et anti-g

Enfin, la lysotypie est indispensable. Il existe 6 groupes de phages dont les plus usités sont :

:

- **Tb** qui lyse seulement *B. abortus* (et partiellement *B. neotomae*) ;
- **Wb** qui lyse *B. abortus* et *B. suis* ;
- **Bk2** qui lyse *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* et *B. neotomae* ;

« **R/C** qui lyse *B. canis* et *B. ovis* ; »

**La mise au point de techniques issues de la biologie moléculaire**

telle que l'amplification en chaîne par polymérase (**PCR**) et l'analyse des profils de restriction (**RFLP**) permettent la détection et la différenciation des espèces du genre *Brucella* et de quelques biovars. Ces techniques devraient, à l'avenir, présenter un grand

intérêt pour le diagnostic de la brucellose lorsque leur sensibilité et leur spécificité seront suffisantes.

#### **10.4 Diagnostic immunologique :**

##### **10.4.1 Recherche des anticorps :**

Pour la recherche des anticorps spécifiques, les techniques les plus couramment utilisées sont l'épreuve à l'antigène tamponné (agglutination sur lame avec un antigène coloré au **rose Bengale**) la fixation du complément et l'**ELISA** d'autres techniques intéressantes sont l'immunodiffusion radiale la séroagglutination lente en tube le test de **Coombs**.

l'agglutination avec du **2-mercaptoéthanol** et l'**électrosynérèse** (ou contre-immunoélectrophorèse).

L'épreuve à l'antigène tamponné (**EÂT**) détecte les anticorps dirigés contre le **LPS-S** et agglutine les **IgM** et les **IgG1**. De même la fixation du complément reconnaît les **IgM** et les **IgG1**. L'agglutination lente en tube est de peu d'utilité pour dépister les infections chroniques Dans tous les cas les techniques classiques souffrent d'une sensibilité et d'une spécificité faibles, tandis que *comme* antigène sont nettement meilleures. Une étude a comparé l'**EISA** à d'autres techniques sérologiques (**EAT** et fixation du complément) pour le diagnostic de la brucellose chez des brebis d'un troupeau infecté (brebis desquelles **B. melitensis** avait été isolé). Elle a montré que l'**ELISA** était la technique la plus sensible (**100 p. 100**) avec ou sans portage de germe, alors que la sensibilité de l'**EAT** était de **90 p.100** et celle de la fixation du complément de seulement **3 p. 100**. Deux systèmes immunoenzymatiques (**ELISA** indirecte **ELISA** de compétition) ont aussi été comparés récemment à l'**EAT**, la fixation du complément et l'immunodiffusion en gélose, avec comme antigène la fraction **NH** de **B. melitensis** : les techniques les plus sensibles se sont révélées être l'**ELISA** indirecte et l'**EAT**, et les techniques les plus spécifiques, l'immunodiffusion et l'**ELISA** de compétition Le test de l'anneau sur le lait (« **ring test** ») n'est pas utilisable chez les petits ruminants alors qu'il l'est chez les bovins. Les techniques sérologiques recommandées par l'**OIE**, notamment pour le commerce international, sont l'épreuve à l'antigène tamponné et la fixation du complément « En général, l'**EAT** est utilisée pour effectuer un premier tri des sérums car elle possède une sensibilité maximale de **93 p.100** et ses résultats peuvent être confirmés par la fixation du complément Cette dernière est d'exécution délicate et nécessite du personnel spécialisé Seuls les sérums présentant un titre supérieur à **20 UI** sont considérés « positifs » Dans ces conditions, on



considère que seulement **6 à 10 p.100** des animaux infectés vont donner une réponse faussement négative à l'**EAT** et **20 p. 100** à la fixation du complément.

Recherche de l'hypersensibilité de type retardé Le diagnostic allergique (mesure de l'hypersensibilité de type retardé) n'est pas employé fréquemment, bien que certains pays (comme la France) l'utilise chez des troupeaux déclarés indemnes de maladie Il existe deux types d'allergènes : « **l'allergène F** » qui est un complexe de protéines et de polysaccharides obtenu à partir d'un extrait salin hypertonique et la « **brucellines INRA** » constituée de protéines (**50-70 p. 100**) et de monosaccharides (**15-30 p. 100**) En général l'épreuve est réalisée à **900** la base de la queue et en cas de résultat positif une réaction inflammatoire importante se développe dans les trois jours qui suivent l'inoculation La distinction, par les techniques sérologiques, entre animaux vaccinés et animaux infectés continue de poser des problèmes L'emploi généralisé de la vaccination dans les premiers stades des campagnes de lutte contre la maladie a dans l'ensemble constitué une avancée majeure vers l'éradication Cependant son utilisation pose le problème de la persistance des anticorps vaccinaux: Je résoudre deux approches ont été envisagées : mise au point de techniques sérologiques qui pourraient distinguer les anticorps vaccinaux des anticorps induits par l'infection et mise au point d'un vaccin qui n'interférerait pas avec le diagnostic. Ces deux approches (respectivement le test de la polarisation de la fluorescence et le vaccin **RB 51** contre *B. abortus*) sont en cours d'expérimentation chez les bovins. Elles pourraient être applicables aux petits ruminants et réduire le nombre d'animaux malades tout en évitant des pertes économiques inutiles.

## **11. PROPHYLAXIE :**

### **11.1 Prophylaxie sanitaire :**

Les pays indemnes doivent contrôler les importations d'animaux vivants et appliquer pour ce faire les dispositions du Code zoosanitaire international de l'**OIE35** Dans un pays infecté, les mesures sanitaires permettant de lutter contre la brucellose ovine et caprine sont les mesures réglementaires classiques à savoir identification des animaux, contrôle de leurs mouvements et abattage des animaux porteurs d'anticorps avec indemnisation des éleveurs Malheureusement ces mesures sont souvent difficiles voire impossibles à mettre en œuvre dans de nombreux pays d'une part les élevages de type extensif y sont très fréquents pour les petits ruminants et d'autre part le coût de ces mesures est souvent prohibitif Dans ces pays il convient donc de pratiquer une prophylaxie

médicale afin de réduire la prévalence de la maladie à un niveau supportable (en général inférieur à 5 p. 100).

## **11.2 Prophylaxie médicale :**

Stratégies de vaccination :

Deux stratégies de vaccination peuvent être envisagées

- la vaccination systématique de tous les jeunes animaux (âgés de 3 à 6 mois) destinés à remplacer les animaux plus âgés d'un troupeau
- La maladie chez l'homme  
Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) la brucellose due à *B. melitensis* entraîne plus de cas humains et de dépenses de santé que n'importe quelle autre brucellose. Elle est connue sous diverses dénominations telles que **mélioecce fièvre de Malte, fièvre ondulante** ou **fièvre méditerranéenne**. Outre les pertes économiques qu'elle occasionne du fait de l'infection animale elle est responsable de nombreux décès humains et d'un coût élevé pour la collectivité lié aux journées de travail perdues, aux traitements médicaux, aux recherches et à la prévention sanitaire. La brucellose humaine est toujours en rapport direct ou indirect, avec la maladie animale. Toutefois l'homme n'est pas un hôte spécifique de *B. melitensis* tout au plus un hôte secondaire ou accidentel. Du reste il n'y a pas de transmission interhumaine ou alors elle est exceptionnelle. Pour ce qui est des autres espèces de *Brucella* il faut signaler que les trois biovars de *B. suis* sont très pathogènes pour l'homme ainsi que *B. abortus* mais à un degré moindre. Les autres espèces de brucelles ne sont pas pathogènes pour l'homme et seuls quelques rares cas de brucellose humaine due à *B. canis* ont été signalés. Les voies d'infection de l'homme à partir du réservoir animal ou du milieu extérieur contaminé sont les voies digestive cutanée et respiratoire. La brucellose se transmet à l'homme directement lors de manipulation sans précaution d'avorton ou d'annexés fœtales contaminées ou par contact avec des animaux malades. C'est du reste une maladie professionnelle chez les éleveurs les vétérinaires et les employés d'abattoir.

Après une période d'incubation de trois semaines ou plus la forme aiguë de la brucellose humaine se traduit par une hyperthermie continue ou intermittente accompagnée d'une faiblesse prononcée du patient, de frissons et d'une sudation nocturne importante d'odeur caractéristique. À ces signes généraux sont associés des troubles digestifs (constipation), des douleurs articulaires, des céphalées un état dépressif de l'irritabilité etc. La maladie peut évoluer sur plusieurs semaines ou plusieurs mois. Des complications peuvent survenir comme une encéphalite une névrite périphérique une arthrite suppurée

une endocardite végétante. Une forme chronique peut parfois être observée qui dure plusieurs années sans foyer d'infection localisé. Des règles d'hygiène strictes ont été édictées par l'OMS, qui visent à réduire ou minimiser les risques de contamination de l'homme.

# **CHAPITRE**

## **IV:**

### **PARTIE PRATIQUE**

## **01. Problématique :**

La brucellose est une zoonose qui à des conséquences importantes aussi bien pour la santé publique que pour l'économie de la plupart des pays sous développement. Elle est caractérisée par un grand pouvoir de diffusion et d'une gravité particulière sur les plans économiques et sanitaires *Brucella abortus* rencontre surtout chez la vache où il cause l'avortement épizootique. La maladie apparaît dans un troupeau par suite de l'introduction d'un animale atteint se généralise inévitablement à l'ensemble du cheptel et entraîne des pertes économiques énormes par l'avortement et l'évacuation prématurée du produit mort. La brucellose constitue un problème économique pouvant annuler les efforts du développement des productions de viande et du lait et contre lequel les plans de lutte doivent être initiés et engagés au niveau de chaque wilaya de notre pays cette lutte permet de faire des efforts non seulement dans des services vétérinaires des offices et organismes concernés par l'élevage des animaux mais également de l'ensemble des autorités de la wilaya (APC, SDA et WILAYA).

L'objectif de notre étude est de faire un dépistage des cas de Brucellose dans certaines fermes dans la région de Tiaret par technique de rose de Bengale (agglutination sur lame).

## **02. MATERIEL ET METHODES :**

### **02.1 Matériel :**

**02.1.1 Animaux :** 30 race ovine et 9 caprin appartenant a différentes fermes dela commune de Tiaret ont été utilisées dans cette études Des informations sur les vaches de chaque exploitation ont été enregistrées.

### **02.1.2 Matériel de laboratoire :**

- 1) *Agitateur mécanique rotatif à vitesse réglable à 80-100 r.p.m.*
- 2) *Agitateur Vortex*
- 3) *Pipettes de 50 µL*
- 4) *Gants chirurgicaux*
- 5) *Tubes secs*
- 6) *Seringues 5 ml*
- 7) *Boite à glace*
- 8) *Micropipettes*

## **02. 2 Méthodes :**

### **02.2.1 Questionnaire :**

Un questionnaire comportant des renseignements concernant le type d'élevage introduction de nouveaux animaux la cohabitation avec des grands ruminants et l'environnement de chaque exploitation a été encore rempli.

### **02.2.2 Échantillonnage :**

Des échantillons de sang ont été recueillis sur tube sec et puis centrifugées et maintenues à  $-4^{\circ}\text{C}$  pour examens ultérieurs.

### **02.2.3 Analyse par rose de Bengale (agglutination sur lame) :**

Ce test a été réalisé selon les instructions du fournisseur SPINREACT

#### **A. Principe de la méthode :**

La Rose de Bengale est une technique d'agglutination sur lame visant à la détection qualitative et semi-quantitative d'anticorps anti-Brucella dans le sérum humain ou animal. La suspension bactérienne et colorée est agglutinée par des anticorps IgG ou IgM présents dans le sérum du patient.

#### **B. PROCEDURE :**

##### **B.1 Méthode qualitative :**

1. Mettre les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai diminue à faibles températures.
2. Déposer 50  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame.
3. Mélanger le réactif de R. de Bengale vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi. Déposer une goutte (50  $\mu\text{L}$ ) près de chacune des gouttes précédentes.
4. Mélanger les gouttes avec un bâtonnet en tâchant d'étaler le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Employer des bâtonnets différents pour chaque échantillon.
5. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

## **B.2 Méthode semi-quantitative :**

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.
2. Procéder pour chaque dilution comme dans l'essai qualitatif.

Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir retiré la lame de l'agitateur. La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti- Brucella égale ou supérieure à 25 UI/mL.

Dans la méthode semi-quantitative, le titre est défini comme la plus grande dilution qui donne un résultat positif.

## **C. CALCULS :**

La concentration approximative d'anticorps anti-Brucella dans l'échantillon du patient s'obtient de la manière suivante :

$$25 \times \text{Titre d'anti-Brucella} = \text{UI/mL}$$

## **D. CONTROLE DE QUALITE :**

Il est recommandé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour contrôler la fonctionnalité du réactif, ainsi que le modèle de comparaison pour l'interprétation des résultats.

Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

## **E. VALEURS DE REFERENCE :**

Jusqu'à 25 IU/mL. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence.

## **F. CARACTERISTIQUES DE LA METHODE :**

1. **Sensibilité analytique :** 25 (+- 5) UI/mL, dans les conditions décrites dans l'essai.
2. **Effet prozone :** On n'observe pas d'effet prozone jusqu'à des valeurs de 1 000 UI/mL.
3. **Sensibilité du diagnostic :** 100 %
4. **Spécificité du diagnostic :** 98 %

### **G.INTERFÉRENCES :**

Hémoglobine (10 g/L), lipides (10 g/L) et facteurs rhumatoïdes (300 UI/mL) n'interfèrent pas. La bilirubine interfère à partir de 2,5 mg/dL. D'autres substances peuvent interférer<sup>5</sup>.

### **H.REMARQUES :**

Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé avec les résultats d'un seul essai. Il faut considérer en même temps les données cliniques du patient

### **I.Signification clinique :**

Le diagnostic de la brucellose peut être établi soit par l'isolement du microorganisme dans le sang ou les selles, soit par la démonstration de la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du patient. Le réactif, compte tenu de sa formulation dans un tampon de pH acide, est capable de réagir avec des anticorps IgG ou IgM, c'est pourquoi il sera très utile au diagnostic d'individus en phase chronique de la maladie, lesquels présentent un niveau élevé d'anticorps IgG, difficiles à détecter par la méthode traditionnelle d'agglutination avec tube (Wright).

### **03. Résultats et Discussion :**

#### **03.1 Résultats :**

Les données recueillies suite aux questionnaires montrent une variation des systèmes d'exploitation aux niveaux des fermes testées. Cela explique la difficulté de dépistage et de réalisation d'une étude épidémiologique adéquate.

L'analyse des échantillons de sang par la technique de rose de Bengale a permis d'obtenir les résultats illustrés dans le tableau 07 ci-dessous :

**Tableau 07 : Nombre de cas de brucellose déterminés par technique de rose de Bengale chez les petits ruminants.**

<b>Espèce</b>	<b>Nombre total des cas</b>	<b>Nombre des cas positif (+)</b>	<b>Pourcentage (%)</b>	<b>Nombre des cas négatif (-)</b>	<b>Pourcentage (%)</b>
<b>Ovin</b>	30	/	0%	30	100%
<b>Caprin</b>	09	01	11,11%	8	88,89%

#### **03.2 Discussion :**

Parmi les 30 échantillons de sang d'ovins, aucun cas positif n'a été déterminé (0%). Par contre, un seul cas (11,11%) de brucellose caprine a pu être identifié en analysant 09 échantillons de sang chez cette espèce. Néanmoins le nombre très réduit de prélèvements réalisés ; la brucellose caprine s'avère plus fréquente que chez l'espèce ovine. L'analyse par le rose de Bengale est un test simple, rapide à exécuter et offrant une grande sensibilité. Il est principalement utilisé comme test de dépistage.



## **Conclusion :**

La brucellose est considérée comme une maladie socioprofessionnelle, par contact de l'animal atteint ou par contact des accessoires d'élevage (matériels et litières) ou par ingestion d'un lait ou dérivés crus contaminés ou par inhalation ou à travers les maréchaux. Cette maladie peut toucher l'éleveur, le vétérinaire, les personnels d'abattoirs, des laboratoires et au niveau de l'industrie laitière comme elle peut être transmise par voie vénérienne considérée ainsi comme MST (maladie sexuellement transmissible). La brucellose attaque la vie citadine, et la vie rurale, car c'est une maladie zoonotique. Au terme de notre travail nous pouvons proposer les recommandations suivantes :

1. Renforcer le cadre juridique et législatif de la prophylaxie médicale et sanitaire et veiller à l'application de vrais tests de dépistages périodiques chez l'être humains et les animaux touchant le plus de régions et d'espèce animale Une telle mesure est capable d'éradiquer la brucellose animale et par conséquent, préserver la santé humaine.

2. Créer une véritable coopération médico-vétérinaire car les sciences médicales sont tous indissociables ou les médecins les bactériologistes les vétérinaires , les épidémiologistes , et les écologistes trouvent un cadre de concertation et d'échange des idées et des expériences .

3. Installer en urgence un système de surveillance pour ce type de maladie basé sur la déclaration la confirmation des cas permettant le suivi de l'évolution de son incidence délimitant leur répartition dans l'espace et dans le temps et décelant les vrais causes de leur transmission.

4. Informer et sensibiliser la population sur les modes de transmission de cette zoonose et sur son incidence sur la santé en faisant appel à tous les moyens de communication possible.

5. Interdire l'élevage des ruminants (bovins, caprins et ovins) dans les milieux urbains pour sauvegarder notre cadre de vie propre et couper la chaîne de l'épidémie.

6. Interdire la vente du lait cru non pasteurisé le fromage frais, le beurre, le lait, ... etc., tant que leur origine est inconnue et leur salubrité est incertaine. Eradiquer les chiens errants qui jouent un rôle important dans la transmission de la maladie. De même, il faut éviter de donner des rejets d'abattoirs à ses propres animaux de compagnie (chiens, chats....)

7. Organiser les campagnes de vulgarisation et de sensibilisation auprès des professionnels de l'élevage (éleveur, boucher, vétérinaire....) et encourager ces derniers à coopérer avec les services concernés en préservant leur intérêt par révision de lois relatives à l'indemnisation sur les pertes touchant les cheptels. Revoir la situation sociale des gens démunis qui font l'élevage d'un nombre réduit de caprins et d'ovins dans les milieux urbains pour subvenir à leurs besoins, afin de les convaincre à renoncer à ce type d'activité dans un environnement très favorable à latéralisation de certaines zoonoses notamment la brucellose.

# Annexe 01



ROSE BENGAL

## Rose de Bengale Agglutination sur lame

### Détermination qualitative d'anticorps anti-Brucella VD

Conserver à 2-8°C

#### PRINCIPE DE LA METHODE

La Rose de Bengale est une technique d'agglutination sur lame visant à la détection qualitative et semi-quantitative d'anticorps anti-Brucella dans le sérum humain ou animal. La suspension bactérienne et colorée est agglutinée par des anticorps IgG ou IgM présents dans le sérum du patient.

#### SIGNIFICATION CLINIQUE

Le diagnostic de la brucellose peut être établi soit par l'isolement du microorganisme dans le sang ou les selles, soit par la démonstration de la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum du patient. Le réactif, compte tenu de sa formulation dans un tampon de pH acide, est capable de réagir avec des anticorps IgG ou IgM, c'est pourquoi il sera très utile au diagnostic d'individus en phase chronique de la maladie, lesquels présentent un niveau élevé d'anticorps IgG, difficiles à détecter par la méthode traditionnelle d'agglutination avec tube (Wright).

#### RÉACTIFS

Rose Bengale	Suspension de <i>Brucella abortus</i> souche S99, dans Tampon Lactate 1 mol/L, phénol 5 g/L, Rose Bengale, pH 3,6.
Contrôle + Bouchon rouge	Sérum animal, avec un contenu d'anticorps anti-Brucella > 50 UI/mL. Conservateur
Contrôle - Bouchon bleu	Sérum animal. Conservateur

#### PRÉCAUTIONS

Phénol : Toxique (T) R24/25 : Toxique au contact de la peau et par ingestion. R34 : Provoque des brûlures. S28.2 : En cas de contact avec la peau, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau. S45 : En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.

#### CALIBRATION

La sensibilité du réactif est standardisée par rapport à la 2<sup>e</sup> Préparation de sérum bovin anti-*Brucella abortus* de NIBS (UK)(WHO).

#### CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les réactifs du kit sont prêts à l'emploi Indices de détérioration des réactifs: Présence de particules.

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination Ne pas congeler : la congélation des réactifs altère irréversiblement leur fonctionnalité.

#### MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Agitateur mécanique rotatif à vitesse réglable à 80-100 r.p.m.
- Agitateur Vortex
- Pipettes de 50 µL

#### ÉCHANTILLONS

Sérum frais. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.  
Les échantillons avec des traces de fibrine doivent être centrifugés avant l'essai. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lipémiques.

#### PROCEDURE

##### Méthode qualitative

1. Mettre les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité de l'essai diminue à faibles températures.
2. Déposer 50 µL de l'échantillon à tester et une goutte de chaque contrôle Positif et Négatif, sur différents cercles d'une lame.
3. Mélanger le réactif de R. de Bengale vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant emploi. Déposer une goutte (50 µL) près de chacune des gouttes précédentes.
4. Mélanger les gouttes avec un bâtonnet en tâchant d'étaler le mélange sur toute la surface intérieure du cercle. Employer des bâtonnets différents pour chaque échantillon.

5. Placer la lame sur un agitateur rotatif à 80 – 100 r.p.m. pendant 4 minutes. L'excès de temps d'agitation peut causer l'apparition de faux positifs.

##### Méthode semi-quantitative

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.
2. Procéder pour chaque dilution comme dans l'essai qualitatif.

##### LECTURE ET INTERPRÉTATION

Examiner macroscopiquement la présence ou l'absence d'agglutination Immédiatement après avoir retiré la lame de l'agitateur. La présence d'agglutination indique une concentration d'anticorps anti-Brucella égale ou supérieure à 25 UI/mL.  
Dans la méthode semi-quantitative, le titre est défini comme la plus grande dilution qui donne un résultat positif.

##### CALCULS

La concentration approximative d'anticorps anti-Brucella dans l'échantillon du patient s'obtient de la manière suivante :

25 x Titre d'anti-Brucella = UI/mL

##### CONTROLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour contrôler la fonctionnalité du réactif, ainsi que le modèle de comparaison pour l'interprétation des résultats.  
Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

##### VALEURS DE REFERENCE

Jusqu'à 25 UI/mL. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence.

##### CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

1. **Sensibilité analytique** : 25 (± 5) UI/mL, dans les conditions décrites dans l'essai.
2. **Effet prozone** : On n'observe pas d'effet prozone jusqu'à des valeurs de 1 000 UI/mL.
3. **Sensibilité du diagnostic** : 100 %
4. **Spécificité du diagnostic** : 98 %

##### INTERFERENCES

Hémoglobine (10 g/L), lipides (10 g/L) et facteurs rhumatoïdes (300 UI/mL) n'interfèrent pas. La bilirubine interfère à partir de 2,5 mg/dL. D'autres substances peuvent interférer\*.

##### REMARQUES

Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé avec les résultats d'un seul essai. Il faut considérer en même temps les données cliniques du patient.

##### BIBLIOGRAPHIE

1. Young E J. *Clinical Infectious Diseases* 1995; 21: 283-290.
2. Alton GC. *Techniques for Brucellosis Laboratory* INRA Paris, 1988.
3. Ariza J. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1996; 9: 126-131.
4. Comité mixte FAO/OMS de experts en Brucellosis. *WLD Health Org Tech Rep Ser* 1958; 148: 1-60.
5. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory test*, 4th ed. AACCC Press, 1995.

##### PRÉSENTATION

Réf. : 1200901 50 tests 

Cont.	: 2,5 mL Rose Bengale
	: 1 mL Contrôle +
	: 1 mL Contrôle -
	: 8 x 6 lames jetables



## LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
<b>Tableau 1</b>	Nomenclature de l'espèce brucella (LAMBIN et GERMAN, 1969)	06
<b>Tableau2</b>	Suivie des brucelles dans l'environnement (LE GUYON,1960)	07
<b>Tableau3</b>	Cara3ctères biochimiques des espèces de brucella (CEON 1988)	10
<b>Tableau 4</b>	Quelques caractéristiques des six espèces reconnues de Brucella et leurs biovars, déterminés par les tests de laboratoire	21
<b>Tableau 5</b>	Stratégies de lutte contre la brucellose bovine	42
<b>Tableau 6</b>	Principales caractéristiques de <i>B. melitensis</i> utilisées lors de l'identification	58
<b>Tableau 07</b>	Nombre de cas de brucellose déterminés par technique de rose de Bengale Chez les petits ruminants	67

## LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Coloration de Gram de Brucella (coccobacilles à Gram négatif)	<b>07</b>
<b>Figure 02</b>	Les tests biochimiques utilisés pour l'identification de Brucella	<b>08</b>
<b>Figure 03</b>	Répartition des antigènes A et M selon les espèces de brucella	<b>09</b>
<b>Figure 04</b>	Action bactériostatique de la fuchsine et la thionine selon les espèces de brucella	<b>10</b>
<b>Figure 05</b>	Modèle proposé pour le trafic intracellulaire de <i>B. abortus</i> dans les cellules non phagocytaires	<b>25</b>
<b>Figure 6</b>	Figure présentent un avortement brucellique	26
<b>Figure7</b>	Figure présente un hygroma chez un taureau	27