

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

التعليم

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

تبارت معه

UNIVERSITÉ IBN KHALDOUN TIARET

البيطرية معهد

INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES

قسم الصحة الحيوانية

DÉPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master complémentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Présenté par :

✍ DERIET AMAR TOUIL SAG MILOUD

✍ AINI ANES

Thème

Enquête sur la brucellose bovine
AU NIEVAU DE LA WILAYA DE TIARET

Soutenu publiquement le

Jury:

Encadreur : RABAI MOHAMED

Président: AMIRAT MOKHTAR

Examineur : AKERMI AMAR

Grade :

MCB

MCA

MCA

Année universitaire 2019/2020

Dédicace

Je dédie ce travail

✎ A ma chère mère

Celle qui m'a toujours comblé d'amour et de tendresse, que dieu la protège, je suis extrêmement fier de toi maman.

✎ A mon chère père

Celui qui m'a fait le plus brave homme et qui est toujours présent pour me soutenir.

✎ A mes frères :

Nor Eddine, Mohamed, Ahmed, Abdhadi, Bilel.

✎ A mes sœurs, et leurs enfants :

Basmla, Amina, Abdallah, Niama, Meriem, Rayhana, et surtout la plus chère Lina.

✎ Aux membres de la famille Deriet :

En témoignage de leur amour et de leur encouragement surtout mon oncle Bouazza.

✎ Et à la personne la plus chère qui m'a accompagné universitaire et qui m'a soutenue «Chenina Naima ».

✎ Et mon cher frère :

AINI ANES pour sa confiance a moi, son écoute, son aide précieuse, heureusement, tu es avec moi et j'espère bien que notre amitié duré éternellement.

✎ A tous mes chères amies :

Pour tout le bon moment et les souvenirs inoubliables.

✎ A tous mes amis de l'université :

Qui ont rendu mon séjour mémorable surtout Sofien, Omar et Nabil.

Miloud

Dédicace

A l'occasion de l'obtention de mon diplôme je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été un grand secours Pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as jamais cessé de me les donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A très cher Mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut tes efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour ma formation.

A mes très chers frères et sœurs

Salman et Abdel-Wadood. Asmaa, Halima, Safia, Chifaa, Naela et Safaa
Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes oncles et mes tantes

Spécialement : Abdelkader. Zohra et Djamilia et leur époux et enfants
Qui m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés et qui m'ont soutenue moralement et matériellement

A mon grand père

Je lui souhaite une longue vie et une bonne santé

A mon neveu

Ihab Je lui souhaite une longue vie et le bonheur, de santé et de réussite

A tous les membres de ma famille, petits et grands

A tous mes amis

Abderrahmane, Nabil, Sofiane, Omar, Toufik et Oussama,
Vous qui m'apportez beaucoup, je vous adore et votre amitié est plus précieuse
que l'or

A mon binôme

Deriet Amar Touil Sag Miloud pour tout le bon moment et les souvenirs
inoubliables je n'espère que notre amitié duré éternellement

Je dédie ce travail à Iman Hadjer

Anes

R

emercîments

Nous devons tout d'abord remercier ALLAH notre créateur, pour le courage et la patience qu'il nous a donnée afin de mener ce projet a terme.

Nous tenons a exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance a notre encadreur docteur RABIA MOHAMED pour son aide ,sa constante disponibilité et ses précieux conseils qui ont permis a ce travail de voir le jour, ainsi pour tous les efforts qu'il a déployé dans ce thème ,de sa compréhension , de sa patience ,gentillesse ,et pour ses encouragement et même ces précieuses correction .

En fin, je tiens à exprimer mon vif remerciement à tous ceux qui m'ont soutenu, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

MILOUD _ANES

Sommaire

Introduction	
Chapitre I Généralité	
1. Définition	03
2. Historique	03
3. Synonymes	04
4. Nomenclature	04
5. Morphologie	04
6. Culture	06
7 Caractères biochimiques	07
8. Importance	08
8. a. Répartition géographique	08
8. b. Impact économique	08
8. c. La brucellose, une zoonose	09
9. Etiologie	10
10. Resistance	10
11. Sensibilité et réceptivité	10
12. Transmission	10
Chapitre II Symptômes et Lésions	
1. Symptômes	13
a. Atteintes Génitales :	13
a.1. Femelle :	13
a.1.1. Avortement :	13
a.1. 2. Rétention Placentaire:	14
a.1.3. Métrite Brucellique :	14
a.1.4. Mammite Brucellique :	15
a.2. Male :	15
a.2.1. Orchite :	15
b. Atteintes Extra-Génitales :	15
b.1. Arthrites :	15
b.2. Hygromas :	16
b.3. Autres Localisations :	16
c. Symptômes et mode évolution chez l'homme :	16
c. 1. Forme aiguë septicémique :	17
c.2. Forme inapparente :	17
c. 3. Forme chronique :	17
2. Lésions :	18
Chapitre III Diagnostic	
1. Diagnostic épidémio-clinique	20
2. Diagnostic expérimental	20
2.1. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE	20
2.2. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE	21
2.2.1. Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) = Test Rose Bengale	21

2.2.2. <i>Epreuve de l'anneau sur le lait = Ring Test</i>	22
2.2.3. <i>Séro-agglutination de Wright</i>	24
2.2.4. <i>Fixation du Complément</i>	24
2.2.5. <i>Epreuve de l'antigène BPA (Buffered Plate Agglutination)</i>	24
2.2.6. <i>ELISA (Enzyme like Immune Sorbent Assay)</i>	25
2.2.7. <i>Fluorescence Polarisation Assay</i>	25
3. <i>Diagnostic d'allergique</i>	27
Chapitre IV Les méthodes de surveillance et de lutte	
1. <i>Traitement</i>	29
2. <i>Prophylaxie sanitaire</i>	29
3. <i>Prophylaxie médicale</i>	31
Chapitre V: Partie expérimentale	
Introduction	35
I. Objectifs du travail	36
1. Localisation et présentation de la wilaya de Tiaret	36
2. Matériels et Méthodes	37
3. Etude statistique et Résultats	38
II. DISCUSSION	41
III. CONCLUSION	44
Référence bibliographique	45

Liste de figuré

Figure n°1: coccobacilles a la coloration de gram sous microscope.....	04
Figure n°2: coccobacilles a la coloration de gram sous microscope.....	05
Figure n°3: diagnostic bactérioscopique (placenta ovin).....	05
Figure n°4: culture sur gélose Columbia au sang frais.....	06
Figure n°5 : culture en milieu liquide BHI.....	06
Figure n°6 : teste biochimique galleries d'identification API.....	07
Figure n°7 : Recherche de la voie d'attaque du glucose.....	07
Figure n°8: incidence de la brucellose dans le monde. (Anonyme 2008).....	08
Figure n°9: Cas d'avortement suite à une infection brucellique.....	13
Figure n°10: Cas de métrite brucellique.....	15
Figure n°11: Hygromas sur l'articulation de genou suite à l'infection par <i>brucella abortus</i>	16
Figure n°12: Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose.....	25
Figure n°13 : Répartition de la wilaya de Tiaret.....	36
Figure n°14 : Courbe analytique du la brucellose bovine dans la wilaya de Tiaret (2014-2020).....	40
Figure n°15 : histogramme de la brucellose on 2017.....	41

Liste des tableaux

Tableau. I : nomenclature de l'espèce brucella.....	02
Tableau. II: Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique.....	21
Tableau III : la répartition des têtes bovines dans les communes dans la wilaya de Tiaret.	39
Tableau IV : Étude statique des taux d'infection par rapport aux nombres des vaches dépistées lors des dernières sept années.....	39
Tableau V : Étude statique des cas positive de brucellose	40
Tableau VI : Evolution de la brucellose au niveau des trois wilayas du centre de pays	41

Liste des abréviations

B : Brucellose

BHI : BHI Brain Heart Infusion Agar

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

OMS : Organisation Mondial de la Santé

EAT : Epreuve à l'antigène tamponné

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbeth Assay

ICFTU : International Complément Fixation Test Unit

BPAT : Buffered Plate Agglutination Test

REV1 : Souche reverse d'un mutant streptomycino-dépendant de *B.mélitensis* biotype en phase S (smooth) isolé par Elberg. (ALTON et LOIS 1968).

IgM : Immunoglobuline classe M

IgG1: Immunoglobuline classe G1

IgG2 : Immunoglobuline classe G2

LPS : Lipo-polysaccharides

FC : fixation de complément

BPA : Buffered Plate Agglutination

FPA : *Fluorescence Polarisation Assay*

TMB : 3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine

PCR : Polymerase Chain Reaction

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

DSP : direction de santé et de la population

LVR : Laboratoires Vétérinaire Régionale de Draa Ben Khedda

DSA : Direction des Services Agricoles

DSV : Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural

Introduction

LA brucellose demeure parmi les zoonoses les plus répandues dans le monde avec plus d'un demi-million de cas humains déclarés annuellement, ce chiffre a multiplié au moins par dix. En ALGERIE , il y a une défaillance dans la détermination des espèces en cause et de l'incidence exacte de cette maladie, de plus, moins 10% des bovins.

En ce sens, nous avons mis en œuvre cette première étude dans la wilaya de Tiaret, pour contribuer à caractériser cette maladie, par l'étude de son évolution et par le calcul de la prévalence annuelle des cas déclarés de cette maladie chez l'homme et l'animal.

Notre travail comporte une partie c'est une synthèse des connaissances bibliographiques portant sur l'étude de la brucellose animale et humaine.

Chapitre

I

Généralité

1. Définition

La brucellose est une maladie infectieuse commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales provoquées par une bactérie du genre *brucella*. C'est une antrozoonose.

Elle se traduit chez l'animal comme une maladie d'évolution aigue et chronique, affectant principalement les organes de la reproduction et dont la manifestation clinique la plus fréquent et l'avortement. [GANTIERE J.P.-2000.]

Les animaux excrètent par voie génitale et par le lait beaucoup de brucelles, très résistantes dans les milieux extérieurs. Les femelles malades avortant au cours de la deuxième moitié de la gestation. Les femelles infectées qui n'avortent pas sont également très contagieuses, elles excrétant les brucelles au moment de la mise-bas.

L'homme se contamine en consommant des produits laitiers infectés ou en manipulant des animaux infectés à la mise-bas. La brucellose humaine se manifeste par des fièvres intermittentes, des sueurs et des douleurs articulaires.

Chez l'homme, c'est une maladie à déclaration obligatoire. Elle est aussi, dans certaines circonstances, classée maladie professionnelle. [PILLY E.-1988]

Les principaux réservoirs d'agents pathogènes sont les chiens (*B. canise*), les porcs (*B. suis*), les bovins (*B. abortus*), ainsi que les moutons et les chèvres (*B. melitensis*). [GANTIERE J.P.-2000; 2003].

2. Historique

La plus ancienne description de la maladie chez l'homme remonte à Hippocrate (460-377 avant J-C). Elle était alors considérée comme un processus pathologique humain fébrile, cliniquement difficile à diagnostiquer. (LEON et al ; 2003).

- la première description clinique complète a été publiée par MARSTON, médecin de la marine anglaise à Malte en 1859.

- en 1887, DAVID BRUCE, un médecin militaire affecté à Malte, a isolé un micro-organisme de la rate de quatre soldats morts de ce qu'on appelait alors « Fièvre de Malte ». Il décrit la morphologie du genre isolé et l'appela *Micrococcus melitensis*

D'après l'ancien nom de l'île : « Méliète »

- en 1897, WRIGHT mit au point pour le diagnostic de la maladie, une technique de serroagglutination qui porte encore son nom « serroagglutination de Wright » (test de serroagglutination lente en tube). (LEON et al ; 2003).

- en 1896 en Danemark, BANG a isolé le *bacillus abortus (bovis)* et en 1914 aux Etats Unis, TRAUM a isolé un microbe semblable, *bacillus abortus suis* responsable de l'avortement de truies.

- en 1918, ALICE EVANS a démontré la parenté de ces différentes genres ; en 1920 MEYER et SHAW les ont regroupés dans le genre *brucella* (en hommage à Bruce). En 1922, BARNET a découvert l'intradermoréaction à la mélitine, d'autres espèces sont identifiées par la suite : *Brucella ovis* en 1953 ; par BUDDLE et BOYES en Nouvelle-Zélande.

- depuis en 1966, trois espèces supplémentaires ont été ajoutées au genre *brucella* *neotomae* isolé chez une rate de désert, et *brucella canis* isolé chez une chienne en 1968 par CARMCHAE et BRUNNER. (TOMA; 2001).

3. Synonymes

La brucellose est connue par diverses nominations : fièvre de malte, fièvre ondulante, fièvre méditerranéenne, avortement contagieux, fièvre abortive, avortement infectieux, avortement épizootique ; maladie de bang et épididymite contagieuse du bélier. [PEDRO N et al ; 1989].

Elle est appelée également, fièvre sudoro-algique, mélitococcie, fièvre de chypre, fièvre folle, septicémie de Bruce. (Anonyme; 2007).

4. Nomenclature

Tableau. I : nomenclature de l'espèce brucella (LAMBIN et GERMAN, 1969)

Embranchement	<i>Shizomycètes</i>
Sous-embranchement	<i>Eubactériae</i>
Famille	<i>Brucellacae</i>
Espèces	<i>Aborus</i> <i>Bovis</i> <i>Mélitensis</i> <i>Ovis</i> <i>Suis</i> <i>Canis</i> <i>Néotomae</i>

5. Morphologie

Ceux sont de petits coccobacilles à Gram négatif (**Figure n°1 et 2**), mesurant 0,6 à 1,5 µm de long et de 0,5 à 0,7 µm de diamètre, non capsulés, non sporulés. A l'état frais, ils sont animés de forts mouvements browniens pouvant conduire à détecter une fausse mobilité. Une caractéristique tinctoriale liée à l'acidorésistance de la paroi peut être révélée par certaines techniques colorimétriques (Stamp, par exemple) permettant un diagnostic bactérioscopique en médecine vétérinaire (placenta ovin **Figure n°3**). [<http://www.microbes-edu.org/index.html>]



Figure n°1 : coccobacilles a la coloration de gram sous microscope

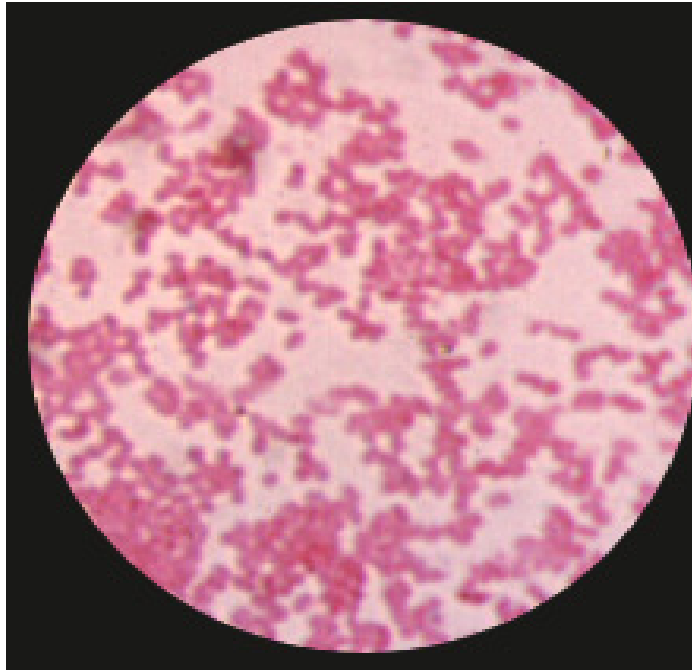


Figure n°2 : coccobacilles a la coloration de gram sous microscope

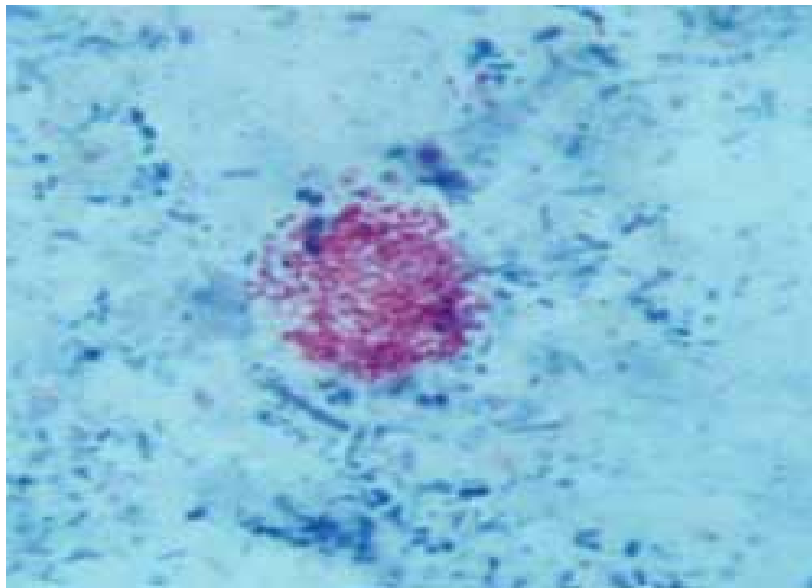


Figure n°3 : diagnostic bactérioscopique (placenta ovin)

6. Culture

Leur culture exige l'usage de milieux enrichis tels gélose Columbia au sang frais ou chocolat, la gélose trypticase soja additionné de sérum.

Les milieux commerciaux actuels conviennent bien. Certaines souches (certains biovars de *B. abortus*, *B. neotomae*, *B. ovis*...) se développent mieux en atmosphère contenant 5 à 10 % de CO₂. La température de croissance optimale est 34-35°C. L'isolement des *Brucella*, en particulier en primo culture, nécessite des temps d'incubation d'au moins 3 à 4 jours (automate d'hémoculture) jusqu'à 2 à 3 semaines. Les colonies sont translucides, rondes à bords réguliers. La culture en milieu liquide présente un trouble léger (exemple sur BHI, **Figure n°5**). <http://www.microbes-edu.org/index.html>

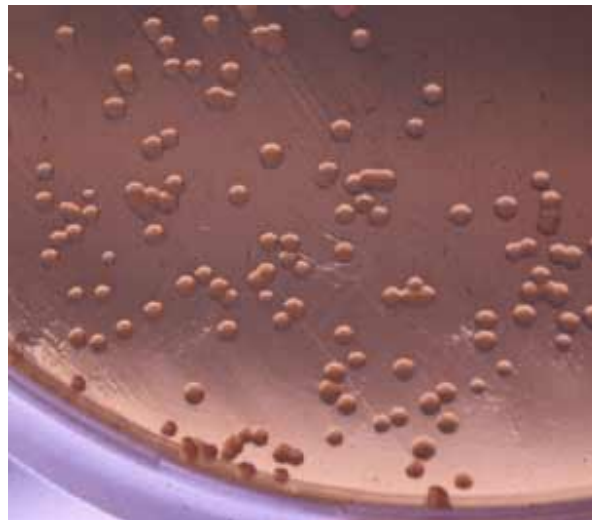


Figure n°4 : culture sur gélose Columbia au sang frais



Figure n°5 : culture en milieu liquide BHI

7. Caractères biochimiques

Ces bactéries sont aérobies strictes, catalase (+), oxydase (+), NO₃ (+) et uréase (+).

L'ensemble des autres caractères métaboliques (hydrates de carbone, protéines, acides aminés, acides nucléiques) est négatif: germes non fermentaires mais oxydatifs, VP(-), LDC (-), ODC(-), ADH(-), indole (-), lactose (-)

On retiendra que l'utilisation de la galerie d'identification API NE peut conduire à une fausse identification (*Moraxella phenylpyruvica*). <http://www.microbes-edu.org/index.html>



Figure n°6 : teste biochimique galeries d'identification API

Métabolisme oxydatif selon l'épreuve de MEVAG : germe indifférent



Figure n°7 : Recherche de la voie d'attaque du glucose

8. Importance

Depuis l'isolement de l'agent causal, la brucellose - sous toutes ses formes, bovine, ovine, caprine, porcine, canine et humaine. A mobilisé dans le monde de nombreuses équipes

de recherche pour tenter de réduire son impact socio-économique considérable sur la production animale et le développement rural. [VERGER J.M.-1993].

8. a. Répartition géographique

Très peu de pays échappent à la maladie. Certains qui semblent indemnes ou presque se révèlent infectés lorsque l'on procède à un dépistage systématique de la maladie.

La répartition des principales espèces de brucella et de leurs biotypes n'est pas strictement liée à des aires géographiques bien définies. Dans la plupart des régions du monde, les trois principales espèces de Brucella sont retrouvées. Quelques caractéristiques peuvent toutefois être dégagées : *B. abortus* domine nettement en Afrique, excepté l'Afrique du nord ainsi qu'en Europe, en Asie et en Amérique du sud L'Europe centrale et l'Amérique du nord sont plutôt touchées par la présence de *B. suis* On retrouve *B. melitensis* dans les pays méditerranéens quant à *B. ovis*, elle a paru longtemps cantonnée à l'Australie mais, depuis plusieurs années elle touche divers pays du monde, son extension étant liée aux échanges économiques.[ROUX J.- 1979 ; 1989].

Si quelques pays ont éliminé la brucellose, la prévalence de celle-ci n'en est pas moins en progression dans la plupart des autres. Certains jouissant quelques temps d'une plus grande prospérité ont tenté d'accroître leur Approvisionnement en lait et en viande en développant l'élevage, généralement en important des races étrangères. Des animaux très réceptifs sont ainsi élevés dans des conditions peu satisfaisantes et les infections à Brucella, souvent contractées auprès d'animaux indigènes, provoquent des épidémies dans la population. D'autre part, la multiplication des voyages internationaux semble également être un facteur favorisant. [ALTON J.J., PLOMMET M.-1986 ; COMITE MIXTE FAO/OMS D'EPERTS DE LA BRUCELLOSE -1990].

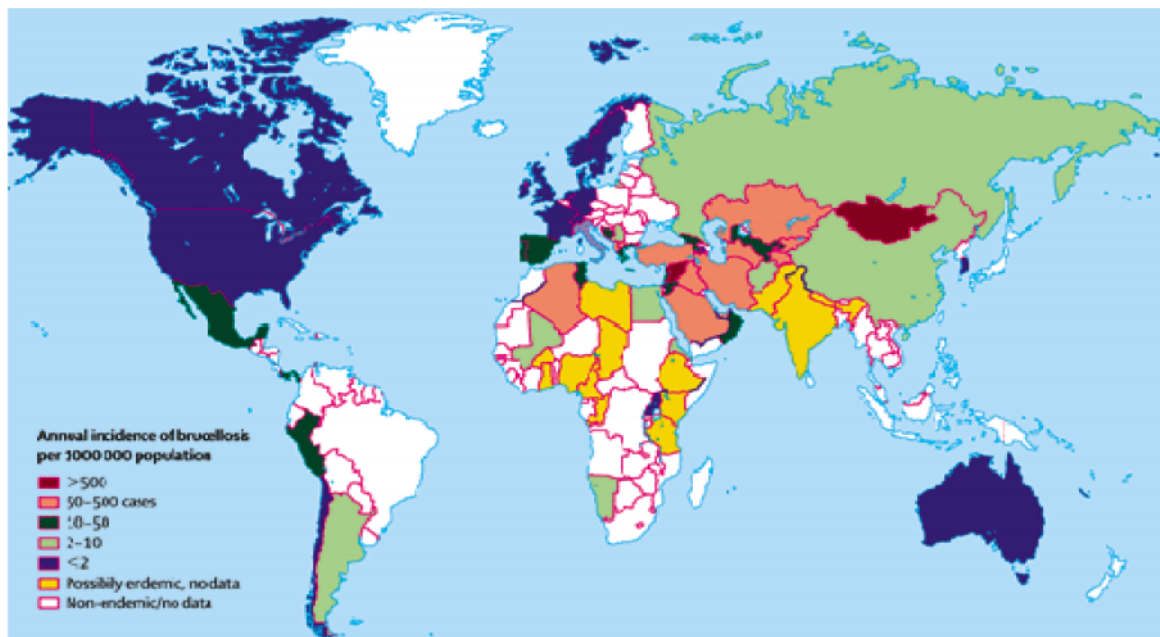


Figure n°8: incidence de la brucellose dans le monde. (Anonyme ; 2008)

8. b. Impact économique

La maladie entraîne des conséquences sérieuses dans les élevages. Les avortements sont responsables des pertes les plus importantes. En effet, l'obtention de pr

avec une fréquence optimale. Et la production laitière qui y est associée contribue souvent pour une part essentielle au revenu de l'éleveur. [GARIN-BASTUJI B.-1993 ; ROUX J.-1989] Or l'avortement est la cause de :

- La chute de la production de lait qui peut atteindre 20 % chez les vaches infectées ayant avorté ;
- La perte de veaux, principale source de revenue des éleveurs de races à viande ;
- L'allongement de la période inter-vêlage de plusieurs mois (il faudra 15 ou 16 mois à une vache pour produire un veau normal) ;
- Par ailleurs, l'avortement s'accompagne fréquemment de rétention placentaire processus infectieux à l'origine de métrite, d'infertilité voire de stérilité dont l'incidence économique est là encore évidente. [GARIN-BASTUJI B.-1993 ; HUNGERFORD T.G.-1967].

Les pertes subies se matérialisent par :

- la différence entre la valeur des animaux en production et celle des animaux morts livrés à l'équarrissage ou saisis totalement.
- La valeur de la quantité de lait non produite ;
- La valeur totale ou partielle des veaux non obtenus lors d'avortement ou de stérilité
- La valeur de la quantité de viande non produite (mort ; retard de croissance).

Ces pertes sont très variable selon les pays, car des données très diverses doivent être prises en compte (extension de la maladie, espèces atteintes, valeur relative des animaux, possibilités de reconstituer un cheptel sain, besoins alimentaires de la population...). Mais elles sont dans tous les cas lourdes à supporter. [ROUX J.- 1979 ; 1989].

8. c. La brucellose, une zoonose

La brucellose demeure dans le monde, un problème important de santé publique. C'est une zoonose majeure. Ainsi en Algérie, la brucellose humaine est une maladie à déclaration obligatoire, inscrite au tableau des maladies professionnelles.

L'homme s'infecte au contact des animaux ou en consommant des aliments d'origines animal. La contamination se fait, dans 75% des cas par voie directe (cutanéomuqueuse) et dans un quart par voie indirecte. La plupart des cas concernent les professions à risque (agriculteurs, vétérinaire, professionnels de la viande). En outre, les proportions de contaminations par le fromage frais et par des voyages dans les pays du bassin méditerranéen sont en constante augmentation. La maladie est souvent invalidante quand elle n'est pas soignée correctement à son début. [ANONYME – 1988 ; FENSTERBANK R.- 1987].

En dépit de tous les efforts et d'avances techniques majeures, la brucellose demeure en cette fin de siècle une zoonose d'importance économique et sanitaire mondiale. Cette situation préoccupe particulièrement l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est mis cette maladie au rang des priorités dans leurs programmes de financement de la recherche agronomique et médical. [VERGER J.M. -1993].

9. Etiologie :

La brucellose bovine est essentiellement due à *Brucella abortus* dont il existe 9 biovars distincts, d'autres brucelles ont cependant été isolées chez ces animaux, c'est ainsi que brucella

suis type I a été découverte dans le lait de vaches contaminer par des porcs infectés , mais il ne semble pas que cette brucelles puisse être la cause d'avortement chez les bovins , dans les régions ou *Brucella melitensis* est enzootique chez les ovins et caprins , l'avortement brucellique est rare chez les bovins malgré tout , les bovins ainsi contaminer par des moutons ou des chèvres peuvent devenir porteur de germes et excréter ce germe dans leur lait .
(MEYER, M.E.1966 MANTHEI, C.A.1950)

D'autres espèces animales peuvent être infectés par *Brucella abortus* et pourraient donc éventuellement constituer des réserves de l'infection : le porc, le cheval, le chien, le mouton, la chèvre, et le vison.

10. Resistance :

Brucella peut survivre plus de deux ans dans de telles conditions (CAMERON, H.S.1932, KUZDAS, C.D. et MORSE, E.V. 1954).

Des températures élevées, la dilution ou la disparition du support organique et l'augmentation de l'humidité diminue la viabilité des brucelles.

Le germe est facilement détruit par les rayons solaires en quelques heures, il est également sensible à la plupart des désinfectants couramment employer, ainsi le climat, l'hygiène, la séparation des animaux peuvent influencer énormément sur la période durant laquelle le matériels et les sujets contaminer vont pouvoir être une source de brucella virulente.

Le moyen le plus fréquent dans la contamination d'un cheptel indemne est l'entrée de bovins eux même infectés un ruisseau, ou fosse de drainage venant d'une exploitation à une autre, il est probable que des avortons et des enveloppes infectées soient transporter d'une ferme à une autre par des carnivores.

Les autres supports indirects possibles sont les véhicules, les vêtements et les chaussures contaminés.

11. Sensibilité et réceptivité :

(JEAN-PIERRE GANIERE ENVN, 2004). Il existe deux facteurs essentiels qui sont :

- La Gestation :

Facteurs important de sensibilité, une vache adulte contaminée hors gestation développera dans plus de 50 % des cas seulement, une infection de courte durée spontanément curable.

- L'Age :

La période de sensibilité maximal est atteinte après complet développement des organes génitaux (maladie des animaux pubères), les bovins pubères peuvent rester infecter pendant toute leur vie, malgré la réponse immunitaire qu'il développe, les jeunes, en revanche, guérissent souvent de leur infection et ne développe qu'une réaction sérologique discrète et transitoire.

12. Transmission :

La brucellose est presque toujours transmise aux animaux réceptifs par un contact étroit d'autre bovins infectés qui sont la source de contagion et qui peut rester porteur de germes et contagieux durant toute son existence ainsi que d'autres espèces animales : ovins, caprins, suidés, chiens, ruminants sauvages, et d'un point de vue générale toute espèce sensible, infecté peut être source de contamination d'un cheptel bovin, seul l'homme n'est pas une source d'infection pour les animaux.

Les matières virulentes jouent un rôle intermédiaire à la contamination, des quantités énormes de brucelles qui sont éliminées par les avortons, les enveloppes fœtales, et les écoulements vaginaux.

Cet écoulement persiste souvent pendant des semaines après l'avortement ou la parturition normale, la majorité des vaches infectées éliminent les brucelles dans leur lait soit continuellement soit épisodiquement au cours de leur lactation les veaux qui sont nourris par de telles mères ou qui reçoivent un lait infecté hébergent le germe dans leur tube digestif et le rejettent avec leurs excréments parce que tous les germes ingérés ne sont pas tués au cours de la digestion.

Les taureaux infectés peuvent héberger *Brucella abortus* et l'éliminer par leur sperme. L'infection naturelle se réalise par voie digestive, les bovins lèchent les avortons, les enveloppes et les voies génitales externes des femelles infectées et c'est de la sorte que la contagion s'opère, les vaches peuvent en surplus ingérer de l'herbe, du fourrage, des aliments et boire de l'eau contenant le contage ou lécher des objets inanimés faisant partie de leur environnement.

Les brucelles peuvent également pénétrer à travers les muqueuses comme les conjonctives ou les narines, ou même à travers la peau. Les brucelles sont présentes dans tous les produits de suppuration « hygroma » parfois les fèces (jeunes nourris avec du lait infecté), les viscères infectés (utérus, mamelles, tissu lymphatique) qui jouent un rôle essentiel dans la contamination humaine.

L'insémination constitue une voie potentielle de dissémination de la brucellose lorsque des taureaux infectés sont utilisés comme donneurs de sperme. (**MANTHEI, C.A. 1950, BENDIXEN, H.C. et BLOM, 1947**).

La maladie est facilement transmise aux femelles réceptives, par l'insémination intra utérine, mais moins fréquente avec la méthode intra cervicale. Les taureaux infectés qui éliminent des brucelles à travers leur sperme transmettent rarement l'infection par le coït, un risque potentiel existe cependant parce que l'environnement peut se trouver contaminer par les spermatozoïdes ou l'urine infectée le sperme infecté qui s'écoule du vagin de la vache aussitôt après le coït.

Chapitre

II

Symptômes et Lésions

1. Symptômes :

Les signes cliniques observés dépendent du statut immunitaire du troupeau. L'incubation est très variable, l'infection aiguë ne s'accompagne d'aucune atteinte générale. L'avortement peut survenir quelques semaines (une femelle infectée pendant la gestation peut avorter au bout de 3 à 6 semaines) à plusieurs mois (ou années) après l'infection. (**GANIÈRE ; 2004**).

La période d'incubation de la brucellose varie de 5 jours à plusieurs mois, avec une moyenne de 2 semaines.

Le début peut être brutal et aigu, avec frissons et fièvre, céphalées intenses, des douleurs articulaires et lombaires, une sensation de malaise général et parfois une diarrhée. Ou bien, le début peut aussi être insidieux, avec sensation de malaise, douleurs musculaires, céphalées et douleurs de la nuque, suivi d'une élévation de la température vespérale.

À mesure que la maladie évolue, la température augmente à 40 ou 41 ° C et baisse progressivement jusqu'à une valeur normale ou presque normale avec des sudations matinales profuses. Habituellement, la fièvre intermittente persiste pendant 1 à 5 semaines, suivie par une rémission de 2 à 14 jours avec des symptômes très diminués ou absents. Chez certains patients, la fièvre peut être transitoire. Chez d'autres, la phase fébrile réapparaît une fois ou de manière répétée sous forme d'ondes (oscillations) et de rémissions pendant des mois ou des années et peut se manifester par une fièvre d'origine inconnue.

Après la première phase fébrile, l'anorexie, la baisse pondérale, les douleurs abdominales et articulaires, les céphalées, les lombalgies, l'asthénie, l'irritabilité, l'insomnie, la dépression et l'instabilité émotionnelle peuvent survenir. La constipation est habituellement prononcée. Une splénomégalie apparaît, de même que des adénopathies plus ou moins volumineuses. Jusqu'à 50% des patients présente une hépatomégalie.

La brucellose est fatale dans < 5% des cas, généralement à la suite d'une endocardite ou de complications graves du système nerveux central <https://www.msdmanuals.com/fr/professional>

a. Atteintes Génitales :

a.1. Femelle :

a.1.1. Avortement :

Le symptôme cardinal de la brucellose est l'avortement. Celui-ci intervient généralement entre le 5^{ème} et 7^{ème} mois de gestation lorsque la génisse a été infectée au moment de la saillie ou au 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 infectante et le moment de l'infection. Si l'infection a lieu de la seconde moitié de la gestation, la vache infectée peut ne pas avorter mais donne 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, les veaux nés des femelles brucelliques sont plus faibles que les veaux sains et peuvent mourir peu après leur naissance. 80% des femelles infectées n'avortent qu'une fois. (**GODFROID J et al ; 2003**).

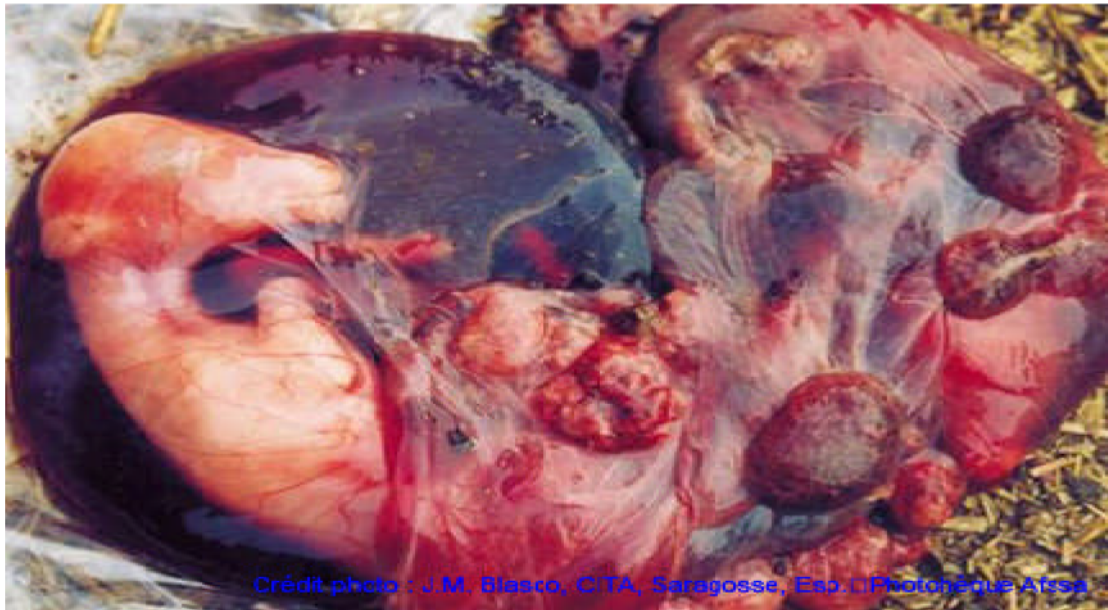


Figure n°1: Cas d'avortement suite à une infection brucellique.

Lorsqu'un animal infecté est introduit dans un troupeau, une explosion d'avortement à lieu: un certain nombre de vaches avortent chaque mois, le pic étant obtenu environ 12 mois après la première introduction. Puis, l'immunité du troupeau se développe, et la présence de la maladie est seulement marquée par des troubles persistants de la reproduction, des rétentions placentaires et des avortements occasionnels. A l'inverse, l'introduction d'une vache saine dans un troupeau antérieurement infecté provoquera l'avortement de cette dernière dans la majorité des cas. **(ROUX J ; 1989).**

a.1.2. Rétention Placentaire:

La rétention des enveloppes fœtales se produit non seulement après l'avortement, mais aussi après un accouchement apparemment normal, et se caractérise par une délivrance manuelle pénible, avec des membranes fragiles et des adhérences cotylédonaires difficiles à rompre ; eaux fœtales sont troubles, grumeleuses, couleur chocolat. **(CRAPLET C et THIBIERM ; 1973).**

a.1.3. Métrite Brucellique :

Les métrites sont aussi des séquelles possibles de l'avortement, on observe alors des sécrétions mucoïdes rouge-brun et des exsudats grumeleux blanchâtres pendant environ un mois.

Des germes secondairement contaminants, souvent des streptocoques ou des *Escherichia coli*, sont généralement la cause de ces métrites. Dans les cas les plus graves, elles peuvent être aiguës et sont suivies d'une septicémie ou de la mort. Plus couramment, elles sont chroniques et entraînent la stérilité, notamment si l'infection se propage dans les trompes de Fallope et perturbe le fonctionnement ovarien.

Chez de tels animaux, la reproduction échoue fréquemment et il n'est pas rare que l'intervalle vêlage-vêlage soit multiplié par trois. **(RADOSTITS OM et al ; 2000).**

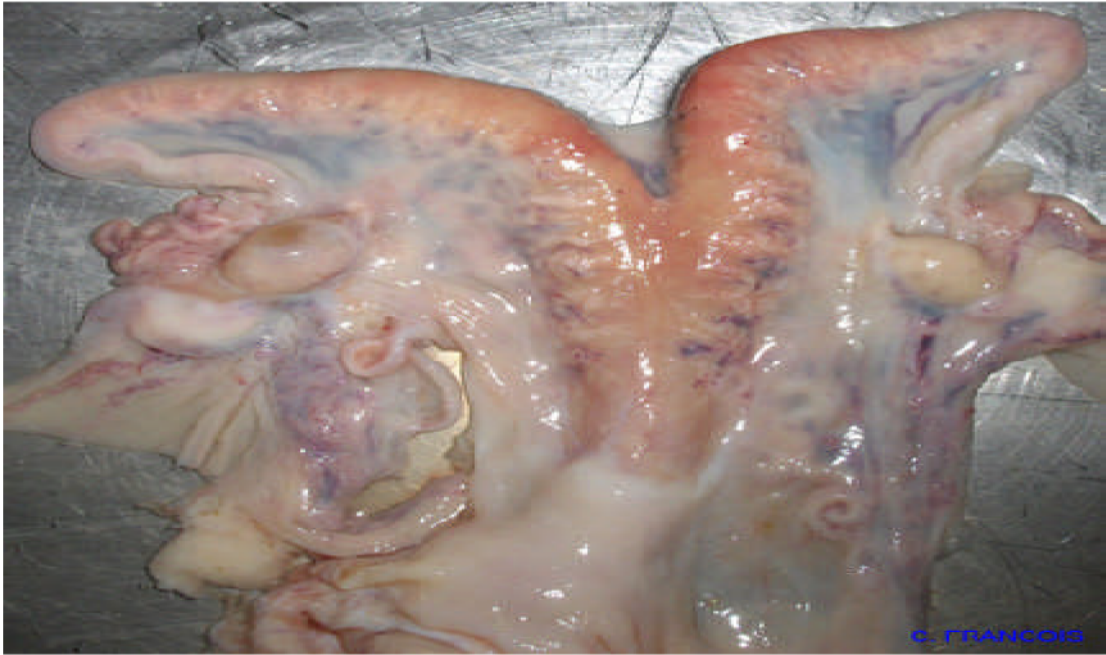


Figure n°2: cas de métrite brucellique

a.1.4. Mammite Brucellique :

Elle atteint 5 à 10% des femelles brucelliques et présente les caractéristiques suivantes :

- La femelle touchée d'une manière générale ne présente pas de symptômes généraux avec des symptômes locaux sont discrets et tardifs, les quartiers atteints tuméfies, chaudes, douloureux et rouges, puis atrophies, voie sclérose, avec parfois présence de noyaux indurés perceptibles à la palpation.
- Les symptômes fonctionnels sont de type chronique : modification de L'aspect de lait (grumeaux, caillots de fibrine) et diminution de la Production. Les lésions sont irréversibles et la guérison est non possible.
- La persistance de l'infection de la mamelle et des ganglions lymphatiques retro-mammaires est fréquente et se traduit par une dissémination intermittente ou continue de *brucella* dans le lait, y compris lors des lactations ultérieures. (GARIN-BASTUJI B ; 1993).

a.2. Male :

a.2.1. Orchite :

Chez le taureau l'orchite et l'épididymite peut se produire. L'une des gaines vaginales, parfois les deux. Peuvent présenter une tuméfaction aiguë douloureuse, d'un volume parfois double de la normale. Sans que pour autant le testicule ait augmenté son volume propre. Le gonflement persiste longtemps et le testicule peut faire une nécrose de liquéfaction allant jusqu'à sa destruction. Les vésicules séminales peuvent être touchées, leur gonflement devient perceptible à la palpation rectale. Les taureaux infectés sont généralement stériles lorsque l'orchite est aiguë, mais ils peuvent recouvrir une fertilité normale si une seule des testicules est touchée. (BLOOD DC et al; 1979).

De tels animaux représentent un danger potentiel lorsqu'ils sont utilisés pour l'insémination artificielle (risque de dissémination par le sperme) on considère cependant qu'ils jouent un rôle épidémiologique relativement faible. (GARIN-BASTUJI B ; 1993).

b. Atteintes Extra-Génitales :

b.1. Arthrites :

Arthrite d'évolution chronique ponctuée par des poussées aiguës. Siégeant surtout au grasset, au jarret et parfois au genou ou à l'articulation coxo-fémorale. (BOUHADID R ; 2004).

b.2. Hygromas :

Les hygromas uni ou latéraux, en particulier au niveau de l'articulation de carpe peuvent se rencontrer chez 66% des animaux lors de l'infection chronique. (GODFROID J et al ; 2003).



Figure n°3 : Hygromas sur l'articulation de genou suite à l'infection par *Brucella abortus*. (Anonyme ; 2007)

b.3. Autres Localisations :

Elles sont rares, il s'agit de localisations ostéo-articulaires, nerveuses, hépatiques et spléniques. (POUILLOT ; 1998).

En conclusion le signe clinique majeur de l'infection brucellique est donc l'avortement. Cependant, il faut signaler que de nombreux animaux asymptomatiques demeurent porteurs chroniques et excréteurs potentiels. (GARIN-BASTUJI B ; 1993).

c. Symptômes et mode évolution chez l'homme :

La brucella humaine est une maladie cosmopolite essentiellement sporadique (CRAPLET et THIBIER, 1980). La maladie chez l'homme est plus fréquemment appelée: fièvre ondulante, fièvre de Malte, fièvre méditerranéenne ou maladie de Bang. Il n'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* et *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 (de 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 mésentérique, ganglions médiastinaux le foyer primaire périphérique ou profond, ganglions auxiliaire, ganglions mésentériques, ganglions médiastinaux.

Après multiplication, la bactérie passe dans la circulation générale et les signes cliniques apparaissent (**LE MINOR et VERON, 1989**).

En fonction des facteurs d'attaque et des facteurs de résistance, on peut distinguer trois formes cliniques (**CRAPLET et THIBIER, 1980**).

c. 1. Forme 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 entrecoupées de rémission entre les vagues. Les températures maxima ne dépassent pas habituellement 1.5 à 2.5 °C de plus que la normale (**FROBISHR et FUESRT, 1976**).

La courbe classique de la fièvre n'est cependant pas toujours fréquente. Au cours des excès de fièvre, les malades sont rapidement fatigués, ils présentent des sueurs abondantes, une somnolence, une irritabilité, de la dépression et plus tard lombalgie, de la raideur des articulations, une perte de poids importante (**BLOOD et HENDERSON, 1976**).

La durée d'incubation peut durer de 4 à 5 jours, et elle peut durer un mois. Cette forme septicémique s'accompagne de splénomégalie dans 50% des cas, d'adénopathie, d'hépatomégalie, et avec des localisations diverses (25%). La leucocytose est normale ou réduite avec une lymphocytose relative (**PECHERE, 1983**).

Les grandes constantes biochimiques ne sont pas perturbées, 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**).

c.2. Forme inapparente :

On peut observer des formes atténuées, parfois cliniquement inapparente mais aussi des formes graves allant jusqu'à la brucellose poly-viscérale maligne. Les formes ostéo-articulaires atteignant surtout l'articulation sacro-iliaque et le rachis (**PECHERE, 1983**).

Les manifestations récentes peuvent être habituellement guéries par un traitement soutenu au moyen des sulfamides, antibiotiques et par le repos au lit (**BLOOD et HENDERSON, 1976**).

c. 3. Forme chronique :

La brucellose chronique peut faire suite à une brucellose aiguë ou subaiguë ; les manifestations chroniques sont plus difficiles à guérir et dans un certain nombre de cas, une cirrhose de foie se développe après des années ou des décennies. Ces manifestations peuvent survenir plus longtemps parce que les signes cliniques ont été, très discrets

La brucellose chronique a été souvent qualifiée de « patraquerie brucelienne » (**ALAZARD, 1986**). Avec un état général bien conservé, les signes fonctionnels à tonalité neuropsychique dominants, asthénie physique, psychique et parfois sexuelle pouvant entraîner

des troubles de caractères. Un tableau de dystonie neurovégétative donne des signes très variables d'un sujet à l'autre ; c'est le syndrome subjectif commun de la brucellose chronique, dont l'évolution peut être prolongé et sur lequel l'antibiothérapie n'a aucun effet (**MINOR et VERON ,1989**).

2. Lésions :

D'une façon générale les altérations histo-pathologiques, qui sont variables et inconstantes, peuvent être rencontrées dans les organes d'animaux morts de brucellose.

Quelque soit la voie de l'infection, on peut observer une lymphadénite locale caractériser par une hyperplasie lymphoïde et une infiltration importante de cellules mononuclées avec quelque neutrophiles et éosinophiles.

Autres 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 sont nécrosés 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, œdémateux, 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 sérosanguinolant, parfois accompagné de pleuropneumonie au niveau thoracique. Cependant certains fœtus ne présentent pas de lésions macroscopiques significatives.

Le pis ne présent pas de lésion macroscopique, mais une inflammation des nœuds lymphatiques supra-mammaires, qui peuvent être hypertrophie, est souvent rapportée.

Les testicules peuvent présenter des lésions de nécrose multifocales ou diffuse atteignant le parenchyme testiculaire et épидидymaire. Dans les cas chroniques, il ya développement des lésions granulomateuses.

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. (**GODFROID J et al ; 2003**).

Chapitre

III

Diagnostic

1. *Diagnostic épidémiologique-clinique*

Il est difficile à réaliser car les symptômes de la brucellose sont tardifs et peu spécifiques. En effet, après une longue période asymptomatique, la maladie est subclinique chez la plupart des animaux. Cependant, le recueil des commémoratifs du troupeau peut faciliter une suspicion. Le diagnostic de laboratoire est donc toujours nécessaire, par isolement de la bactérie ou mise en évidence d'anticorps dans le sérum.

Une suspicion de brucellose bovine peut être émise lors de : avortement isolé ou en série, mort d'un veau en anoxie dans les 48h après la mise bas, fréquence anormale des rétentions placentaires, hygromas, et orchite/épididymite chez le mâle.

Pour les petits ruminants, un troupeau est suspecté de brucellose lors d'avortements en phase terminale de gestation, de mortalité post natale, ou d'atteinte des organes génitaux mâles.

Enfin, des symptômes chez l'Homme tels que de la fièvre, des boiteries, des douleurs musculaires... doivent également entraîner une suspicion de brucellose. [ECOLES NATIONALES VÉTÉRINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005].

2. *Diagnostic expérimental*

Les prélèvements les plus souvent utilisés pour le diagnostic de laboratoire sont : des calottes placentaires, du liquide utérin, l'avorton lors d'un avortement, ou du sang. On utilise aussi parfois du colostrum, du sperme, des sécrétions vaginales, ou du tissu et des nœuds lymphatiques.

Le dépistage est possible à partir de sang sur tube sec ou de lait de mélange récolté dans le tank. [ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE. – 2006].

2.1. **DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE**

Il est réalisé par examen microscopique avec colorations, ou par culture en milieux sélectifs, permettant une identification de genre et espèce. Les échantillons les plus intéressants pour sa réalisation sont : des cotylédons issus du placenta, des excréments vaginales, ou du poumon, foie et contenu abomasal du fœtus. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003].

Ces prélèvements doivent être fixés avec la chaleur ou l'éthanol avant d'être colorés par les méthodes de Stamp, Köster, ou Macchiavello. L'observation d'agrégats intracellulaires permet alors d'émettre une suspicion de brucellose. Mais la morphologie de la bactérie est la même que celle de *Coxiella Burnetti*, *Chlamydomyxa abortus* et des confusions peuvent avoir lieu. Ces bactéries sont résistantes à la décoloration par les acides faibles et apparaissent donc colorées en rouge sur fond bleu par la coloration de Stamp.

Cependant, ces méthodes de coloration ont une faible sensibilité lorsqu'elles sont réalisées sur le lait ou les produits laitiers, où les *Brucella* sont souvent présentes en faible nombre et où l'interprétation est rendue difficile par la présence de globules gras. Toute coloration, positive ou non, doit donc être confirmée par une mise en culture.

Un isolement et une mise en culture de *Brucella* peuvent être réalisés sur milieux solides classiques, qui limitent la formation de mutants « rough » et

contaminants. Cependant, il est recommandé d'utiliser des milieux liquides pour les échantillons volumineux ou pour pratiquer un enrichissement. Les milieux les plus utilisés sont le « Trypticase-Soy Agar » ou le « Sérum Dextrose Agar ».

La culture sur milieu sélectif permet d'éviter la croissance d'autres espèces de bactéries. Le plus utilisé est le milieu de Farrell, qui est préparé par addition de six antibiotiques à un milieu de culture classique. Un enrichissement peut être pratiqué lorsque la culture est réalisée à partir de prélèvements pauvres en bactéries, comme le lait ou le colostrum.

Au bout de trois ou quatre jours d'incubation, des colonies rondes de 1-2 mm de diamètre apparaîtront, bombées, transparentes, de couleur miel, lisses, luisantes, et à contours réguliers. Ces colonies deviennent avec le temps plus gros et plus foncées.

L'identification d'espèce et le bio typage peuvent être réalisés grâce à des techniques de phago-lyse et sur culture bactérienne, à partir de critères biochimiques et sérologiques. Une technique de PCR récemment mise au point permet également la détection et l'identification de *Brucella*, et plusieurs techniques moléculaires, comme la PCR, la RFLP, et le Southern Blot permettent de différencier les espèces de *Brucella* et certains de leurs Biovar.

Les souches vaccinales sont identifiables par certaines techniques bactériologiques (milieux sélectifs), ainsi que par PCR (mais son intérêt est limité). [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005)].

2.2. DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

Le diagnostic et le dépistage sérologiques sont très utilisés, sur sérum ou lait. Les anticorps détectés sont ceux dirigés contre les epitopes du LPS, ce qui entraîne des problèmes de parenté entre *Brucella abortus* et d'autres bactéries. En effet, lorsque la prévalence est faible, la valeur prédictive de ces tests diminue car beaucoup de faux positifs apparaissent, notamment à cause d'une réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica*. De plus, l'intensité et la durée de la réponse humorale sont très variables en fonction des individus et des doses infectieuses, avec aussi des variations qualitatives. La période la plus efficace pour réaliser ce test chez les petits ruminants est le post-agnelage, puisque les titres en anticorps sont alors très élevés. Mais aucun de ces tests ne détecte tous les animaux infectés.

La réalisation de ces tests doit suivre les standards internationaux définis par l'Office International des Epizooties, et les réactifs utilisés doivent avoir été produits en respectant les standards décrits. Ainsi, pour la production d'antigènes de diagnostic, seules les souches S99 (Weybridge) ou 1119-3 de *Brucella abortus* peuvent être utilisées. Ces souches doivent être complètement « smooth » et ne doivent pas agglutiner en milieu salin. Elles doivent provenir de cultures pures et se montrer conformes aux caractéristiques de *Brucella abortus* biovar1 d'indépendance vis-à-vis du CO₂. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005)].

2.2.1. Epreuve à l'antigène tamponné (EAT) = Test Rose Bengale

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), diluée en tampon acide puis colorée par le Rose Bengale. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, à l'obscurité, et ne doit surtout pas être congelé. Selon les normes de l'Office International des Epizooties, l'antigène pour le test au Rose Bengale est préparé en récupérant par centrifugation des souches 99 de *Brucella abortus*

tuées, et en les remettant en suspension dans du phénol salin. Pour chaque 35 ml de cette suspension, on rajoute 1 ml de Rose Bengale à 1 % dans de l'eau distillée ; et le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante. Le mélange est ensuite filtré et centrifugé pour recueillir les cellules colorées, remises en suspension au taux de 1g de cellules pour 7 ml de diluant (hydroxyde sodique, phénol, acide lactique). La couleur de cette suspension doit être rose intense, et le surnageant doit être sans colorant.

La suspension est de nouveau filtrée à plusieurs reprises, puis conservée à l'obscurité et au frais

Ce test permet le diagnostic sérologique des brucelloses (*melitensis*, *suis*, *abortus*) sur lame, en milieu acide tamponné (pH 3,65 ±0,05). Le tampon acide permet d'augmenter la spécificité car l'activité agglutinante des immunoglobulines G augmente en pH acide (le Test d'Agglutination de plaque, présenté page 45, utilise également un antigène brucellique tamponné). C'est une des méthodes les plus faciles à mettre en oeuvre et la plus largement utilisée pour la mise en évidence des anticorps brucelliques dans les sérums.

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

Le mode opératoire est le suivant :

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

Il est préférable d'avoir un témoin positif (sérum infecté) et un témoin négatif. Pour l'interprétation, une absence d'agglutination signifie qu'il n'y a pas d'anticorps dans le sérum, tandis que l'existence d'une agglutination, aussi minime soit-elle, signale la présence d'anticorps anti-*Brucella*.

Ce test est très sensible, en particulier chez les animaux vaccinés. En effet, le vaccin peut provoquer une forte réponse en anticorps, et interférer alors avec les tests sérologiques. Des faux négatifs peuvent apparaître, et seront détectés en renouvelant le test à au moins trois mois d'intervalle.

Simple et rapide, ce test est donc surtout utilisé en dépistage. Une fixation du complément ou une ELISA sont ensuite nécessaires pour confirmer les positifs ou douteux.

Pour les petits ruminants, c'est le test le plus utilisé en dépistage, avec une sensibilité de 90 % et une détection des anticorps plus précoce que pour la fixation du complément.

Cependant, la sensibilité de ce test peut beaucoup varier en fonction de la situation épidémiologique de la maladie. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.200; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005)].

2.2.2. Epreuve de l'anneau sur le lait = Ring Test

C'est une réaction d'agglutination qualitative obtenue par interaction des anticorps contenus dans le lait dirigés contre le LPS bactérien avec un antigène coloré par l'hématoxyline. Les agglutinats colorés sont adsorbés sur les globules gras et se regroupent en surface dans l'anneau de crème.

L'antigène utilisé est une suspension de *Brucella abortus* (souche 99 de Weybridge) inactivée par la chaleur et le phénol (0,5%), et colorée à l'hématoxyline. Il doit être conservé entre 2 et 8°C, sans être congelé.

Selon les normes de l'Office International des Epizooties, la production de cet antigène se fait à partir d'une suspension de souches 99 de *Brucella abortus* tuées, centrifugée puis remise en suspension dans une solution d'hématoxyline colorant. Après avoir reposé 30 minutes à température ambiante, le mélange violet est additionné de 940 ml de sulfate d'ammonium aluminium à 10%. La solution doit être gardée à température ambiante pendant 45-90 jours. Avant utilisation, la solution est mélangée et filtrée. La solution finale a une concentration de un gramme de cellules pour 30 ml de colorant et est conservée 48h à température ambiante. Elle est ensuite re-centrifugée et lavée trois fois, pour avoir un pH de 3.0. Les bactéries sont finalement remises en suspension au taux de 1 gramme pour 27 ml de diluant (phénol, acide citrique, hydrogène phosphate disodique), et filtrées une dernière fois.

Permettant la mise en évidence des anticorps brucelliques dans le lait, cette technique est très simple et bien adaptée à la surveillance épidémiologique des cheptels laitiers.

Le mode opératoire est le suivant :

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

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

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

Ce test est très sensible, mais des faux positifs peuvent apparaître chez les animaux récemment vaccinés (moins de 4 mois post-vaccin) ou dans des échantillons contenant du lait anormal (colostrum ou lait de mammite). Quand ce test est positif, il est nécessaire de tester individuellement tous les animaux pour détecter et pouvoir éliminer les malades. Il peut être

utilisé pour le dépistage de la brucellose bovine, mais il n'est pas utilisable chez les petits ruminants. Dans les grands troupeaux, sa sensibilité diminue. [INSTITUT POURQUIER].

2.2.3. *Séro-agglutination de Wright*

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

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

Ce test, moyennement sensible et très peu spécifique, n'est pas reconnu comme test de référence par les organismes internationaux. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N.Pedro, SZYFRES.2005)].

2.2.4. *Fixation du Complément*

Cette technique est très utilisée comme test de confirmation mais elle est compliquée à réaliser, demande un équipement de laboratoire sophistiqué et une équipe bien formée. La fixation du complément peut être réalisée à chaud (37°C pendant 30 minutes) ou à froid (4°C pendant 14-18 heures), avec des caractéristiques légèrement différentes, à adapter à la qualité des sérums testés.

Le protocole est le suivant :

- Des dilutions successives du sérum inactivé sont mises en présence de concentrations constantes d'antigène brucellique ainsi que de complément titré, puis le tout est mis à incuber, au chaud ou au froid.

- Les anticorps éventuellement présents dans le sérum analysé forment des complexes antigène/anticorps, propres à fixer le complément (s'il n'y a pas d'anticorps spécifiques, le complément reste libre).

- La présence de complément libre est mise en évidence par addition d'un complexe hémolytique : globules rouges de mouton + sérum hémolytique correspondant. Si des anticorps spécifiques de *Brucella abortus* sont présents, il y a absence d'hémolyse, tandis qu'en l'absence de ces anticorps, une hémolyse se produit.

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

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

Ce test est très spécifique, mais certains faux positifs peuvent apparaître à cause du vaccin S19. Les femelles vaccinées avec le vaccin S19 entre 3 et 6 mois sont considérées comme positives si le sérum donne une fixation positive à un titre de 30 ou plus ICFTU/ML lorsque les animaux sont testés à l'âge de 18 mois ou plus. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005)].

2.2.5. *Epreuve de l'antigène BPA (Buffered Plate Agglutination)*

C'est une méthode rapide et facile, utilisant un principe d'agglutination rapide sur lame en milieu acide tamponné (pH 3,7), ce qui permet d'éliminer les agglutinations non spécifiques. Les colorants utilisés sont le cristal violet et le vert brillant.

Le sérum est mélangé avec l'antigène, puis la plaque est agitée, avant d'être incubée quatre minutes dans une chambre humide à température ambiante, et ceci deux fois de suite. Ressortie finalement, elle est agitée encore une fois avant d'effectuer la lecture. Lorsque l'antigène coloré en bleu est mis en présence de sérums contenant des anticorps spécifiques, il se forme alors des agglutinats visibles à l'œil nu.

Ce test est très sensible, notamment pour la détection d'anticorps vaccinaux, mais les positifs doivent être confirmés par un test plus spécifique. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005].

2.2.6. ELISA (Enzyme like Immune Sorbent Assay):

Pour la réalisation de ce test, le LPS de *Brucella* est fourni fixé sur les parois des puits des microplaques en polypropylène. Les sérums ou laits à tester sont dilués et mis à incuber dans les puits. S'il y a des anticorps spécifiques, il se forme alors des complexes LPS/anticorps fixés sur les parois du puits. Après lavage, une immunoglobuline anti-anticorps couplée à une enzyme est mise à incuber, et ce conjugué se fixe sur l'immun complexe. Après un deuxième lavage, le substrat de l'enzyme (TMB) est ajouté dans les puits.

Si l'immun complexe est présent, l'enzyme assure la transformation du substrat en un composé bleu, devenant jaune après blocage. L'intensité de la coloration mesure le taux d'anticorps présents dans l'échantillon. Le seuil de positivité est fixé à partir d'un échantillon de contrôle positif à introduire sur chaque microplaque.

L'ELISA indirecte est un test très sensible mais il ne permet pas toujours de différencier les animaux infectés des vaccinés et est donc plutôt utilisé en dépistage. Tandis que l'ELISA de compétition est lui très spécifique, et évite la plupart des réactions dues aux anticorps vaccinaux du vaccin S19. On l'utilise donc pour la confirmation sur des animaux vaccinés. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005].

2.2.7. Fluorescence Polarisation Assay

C'est une technique simple et rapide de mesure d'interaction antigène/anticorps, qui peut être pratiquée aussi bien en laboratoire que sur le terrain. Elle est recommandée comme test de référence dans le cadre du commerce international.

Le mécanisme de ce test est basé sur la rotation aléatoire des molécules en solution. La taille des molécules étant le principal facteur influençant le taux de rotation, qui y est inversement proportionnel, une petite molécule tourne plus vite qu'une grosse. Si une molécule est marquée avec un fluorochrome, le temps de rotation pour faire un angle de 68,5° peut être déterminé en mesurant l'intensité de la lumière polarisée dans des plans horizontaux et verticaux. Une grosse molécule émet ainsi plus de lumière dans un plan simple (plus polarisée) qu'une petite molécule, qui tourne plus vite et qui émet plus de lumière dépolarisée.

La sensibilité et la spécificité de ce test sont proches de celles de l'ELISA de compétition. Sa spécificité pour les animaux vaccinés avec le vaccin S19 est proche de 99%.

Cependant, l'interprétation des résultats n'a pas encore été standardisée.

Tableau II : Caractéristiques des différentes techniques de diagnostic sérologique

Test	Sensibilité	spécificité	Immuno globulines détectées	Distinction vaccinés/ malades	cout	Faisabilité
EAT	+++ Selon situation épidémiologique	+++	IgM IgG1 IgG2	NON	Faible	Facile : peut se faire sur le terrain
Ring Test	+++ Selon la taille du troupeau	++	IgG	OUI généralement	Faible	Assez facile, mais nécessite une étuve
Séro-agglutination de Wright	++	+	IgG2	NON	Faible	Facile
FC	+++	++++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Complicé et nécessite matériel de pointe
BPA	+++	+++	IgG	NON	Faible	Plus compliqué qu'EAT pour résultats équivalents
ELISA indirect	++++	+++	IgG1 IgG2	NON	Elevé	Difficile
ELISA de compétition	+++	++++	IgG1 IgG2	OUI	Elevé	Difficile
FPA	+++	+++		OUI	Moyen	Facile faisable sur le terrain, mais nécessite matériel spécifique

En conclusion, selon les recommandations de l'Office International des Epizooties, le test Rose Bengale, le BPAT (Buffered Plate Agglutination Test), l'ELISA et le test en lumière polarisée sont des bons tests de dépistage. Mais les positifs doivent toujours être confirmés en raison de leur manque de spécificité.

Le test de Séro-agglutination est considéré comme non satisfaisant pour des fins de commercialisation. Le test de fixation du complément est plus spécifique et a un système standardisé d'interprétation quantitative. Les performances de l'ELISA et du test en lumière polarisée sont quant à elles comparables ou meilleures que celles du test de fixation du complément, et comme ils sont plus simple techniquement, ils devraient être utilisés en priorité.

Dans les autres espèces animales, comme les buffles, les bisons d'Europe et d'Amérique, les yaks, les wapitis et les chameaux, les mêmes procédures sérologiques peuvent être utilisées (puisque la pathogénie est identique), mais chaque test doit être validé pour l'espèce animale étudiée. [LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean,

CHERMETTE.2003 ; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005].

3. Diagnostic d'allergique

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

C'est une réaction d'hypersensibilité retardée suite à l'injection dans le derme de Brucella. Elle est peu utilisée en routine, avec une bonne spécificité mais une sensibilité moyenne. C'est donc un bon test complémentaire des approches sérologiques mais il ne permet pas non plus de différencier un infecté d'un vacciné. Il n'est jamais mis en œuvre en pratique.

Chez les petits ruminants, on pratique une injection par voie sous-cutanée à la paupière inférieure. Une réaction locale nettement positive se produit au bout de 48h chez les infectés : œdème de la paupière et de la région zygomatique. C'est un moyen de dépistage des troupeaux infectés (et non des animaux infectés), car il y a beaucoup de faux négatifs. **[LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE.2003; ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHA N. Pedro, SZYFRES 2005].**

Chapitre IV

Les méthodes de surveillance et de lutte

1. Traitement

Brucella abortus étant sensible aux antibiotiques, notamment à la tétracycline, le traitement est théoriquement possible. Mais il est interdit en raison de son coût très élevé, des risques d'apparition de résistance, et de l'absence de garantie quant au statut infectieux d'un animal traité. [ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES (enseignants de maladies Contagieuses.2003 ; ACHAN. Pedro, SZYFRES 2005)].

2. Prophylaxie sanitaire

Elle consiste en un assainissement des cheptels bovins infectés et une protection des cheptels indemnes.

Elle comporte d'une part la prise de mesures offensives :

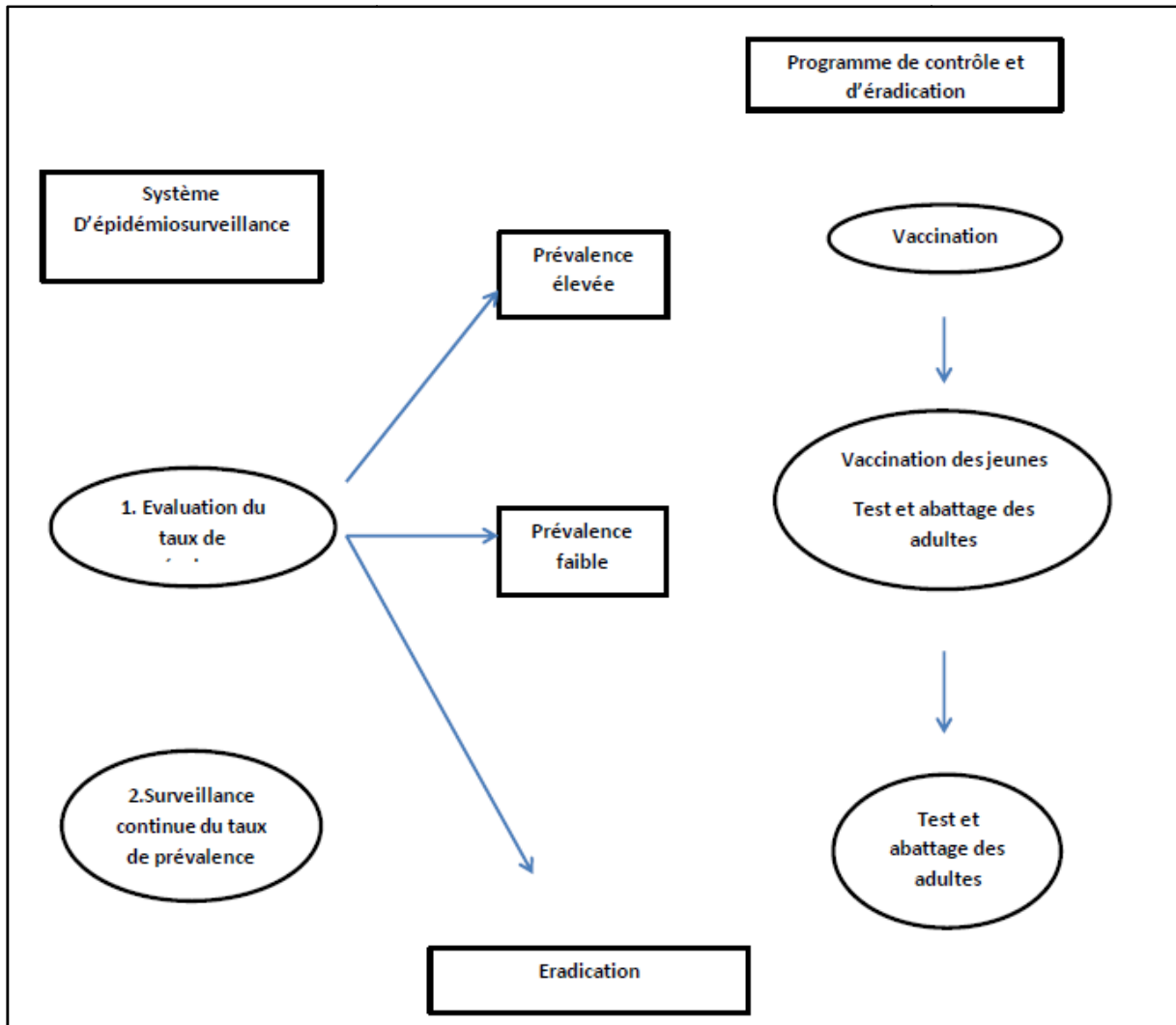
- Dépistage des animaux infectés (persistance parfois toute la vie), et isolement de ceux-ci, puis leur élimination rapide vers la boucherie
- Elimination des jeunes femelles nées de mère infectée
- Contrôle de toutes les espèces réceptives et élimination des infectés
- Utilisation de l'insémination artificielle, pour limiter la transmission vénérienne
- Isolement strict des animaux infectés, surtout lors de mise bas, dans un local facile à désinfecter, et mesures de désinfections adaptées (destruction du placenta, traitement des fumiers...)
- ...et d'autre part des mesures défensives :
- Introduction de bovins certifiés indemnes, avec quarantaine et contrôle individuel par sérologie ;
- Maintien du cheptel à l'abri des contaminations de voisinage ;
- Hygiène de la reproduction : monte publique ou insémination artificielle ;
- Désinfections périodiques des locaux ;
- Isolement des parturientes et destruction des placentas ;
- Contrôle régulier des cheptels ;

Pour les petits ruminants, l'assainissement des troupeaux infectés repose sur l'isolement et l'élimination précoce de tous les ovins reconnus infectés, ainsi que sur la destruction du germe éventuellement présent dans l'environnement. Le résultat sera définitif uniquement si le taux d'infection est faible, avec un renouvellement fréquent des contrôles, et un cheptel à l'abri de Contaminations extérieures. Si ces conditions ne sont pas réunies, la seule solution est l'élimination en bloc du troupeau.

Quant à la protection des troupeaux indemnes, elle demande de contrôler les introductions et la transhumance (interdite pour les troupeaux infectés), et de réaliser un contrôle sérologique et/ou allergique régulier des cheptels.

Dans les pays en développement où la prévalence de la maladie est élevée, il faut commencer par une lutte individuelle (vaccination, assurance), pour aller progressivement vers une lutte collective (vaccination, éradication). L'objectif est d'abord le contrôle, soit le maintien des coûts de la maladie à un niveau compatible avec la rentabilité économique, puis ensuite l'éradication, afin d'éliminer l'infection brucellique d'une région (elle est donc limitée dans le temps, à l'inverse du contrôle qui se poursuit à l'infini).

Figure n°12 : Adaptation des mesures de lutte au taux de prévalence de la brucellose



Dans tous les cas, pour une prophylaxie sanitaire efficace, il faut utiliser une méthode de dépistage telle que les animaux infectés soient détectés avant d'avoir pu infecter d'autres animaux. La maladie étant asymptomatique pendant longtemps, le dépistage est donc basé sur la mise en évidence indirecte de l'infection, soit la présence d'anticorps, et le vaccin S19 complique cela.

Avec les tests sérologiques, les animaux seront « positifs » ou « négatifs », ce qui ne correspond pas forcément aux statuts « infectés » et « indemnes ». En général, dans une population où la prévalence relative est importante, la Valeur Prédictive Positive des tests sera plus élevée. Il faut donc faire des tests de contrôle sur les échantillons « positifs » au dépistage. On peut alors réaliser une interprétation en série : un sérum est considéré « infecté » quand il est positif aux différents tests de contrôle, et la spécificité sera alors très bonne. Ou bien on fait une interprétation en parallèle : un sérum est dit « infecté » quand il est positif à un test de contrôle au moins. La sensibilité sera bonne, mais la spécificité moindre.

Ainsi, aucun test diagnostic n'étant idéal, il faut faire une combinaison de différents tests, avec un test de dépistage sensible, et un ou plusieurs tests de contrôle pour améliorer la Valeur Prédictive Positive, puis une interprétation en série pour améliorer la spécificité. Ces techniques sont à adapter à la situation épidémiologique de la maladie et aux infrastructures existant dans chaque pays. **[ÉCOLES NATIONALES VÉTÉRINAIRES FRANÇAISES]**

3. Prophylaxie médicale

La vaccination est recommandée par l'Office International des Epizooties pour le contrôle de la brucellose dans les zones où la prévalence de l'enzootie est élevée. Le vaccin S19 est le vaccin de choix pour les bovins car il protège durant toute la durée de vie utile de l'animal, et il est peu onéreux. Pour éviter de gêner le diagnostic, il est recommandé de limiter la vaccination aux jeunes animaux (veaux de 3 à 8 mois) chez lesquels les anticorps vaccinaux disparaissent rapidement. On estime que 65% à 80% des animaux vaccinés bénéficient d'une protection durable contre l'infection. De plus, le vaccin ayant un puissant effet anti-abortif, il diminue une des principales sources d'infection, à savoir les fœtus. Dans un programme de vaccination systématique, les meilleurs résultats sont obtenus pour une couverture annuelle de 70% à 90% des veaux en âge d'être vaccinés. Les femelles de plus de huit mois et les mâles ne doivent pas être vaccinés, et la vaccination de rappel n'est pas recommandée. Le principal objectif d'un tel programme est de réduire le taux d'infection et de faire en sorte que les troupeaux soient résistants à la brucellose, pour que l'éradication de la maladie puisse ensuite être entreprise. On estime que 7 à 10 ans de vaccination systématique sont nécessaires pour atteindre cet objectif.

Pour les bovins, deux vaccins existent actuellement contre la brucellose : le vaccin B19 et le vaccin RB51.

Le vaccin B19 n'est pas un vaccin idéal mais c'est le plus utilisé à travers le monde. C'est un vaccin à agent vivant fabriqué à partir de la souche S19, qui appartient au biotype 1 de *Brucella abortus*, mais n'a pas besoin de supplément de CO² pour sa croissance, et n'est pas inhibé par le bleu de thionine, la safranine, la pénicilline et l'érythrol.

Son efficacité est très bonne, mais il a quelques inconvénients majeurs. En effet, il induit une réponse humorale identique à celle qui se produit lors d'une infection (déterminant antigénique majeur porté par le LPS de la membrane externe), avec des anticorps résiduels dans le lait et le sérum posant problème pour le dépistage. De plus, il peut être infectieux pour l'Homme, et a un effet abortif chez certaines vaches.

Il peut être injecté par voie sous cutanée à la dose de 50-80 milliards de bactéries vivantes. Il induit alors une réaction positive aux tests sérologiques, d'autant plus durable que la vaccination se fait tard. Il provoque également des avortements quand il est administré à une vache en gestation, mais ceci est rare (moins de 1% des cas). Enfin, dans 2% des cas, il y a des infections vaccinales persistantes chez la vache laitière, avec excrétion de souche vaccinale dans le lait (ou dans le sperme pour le taureau) pendant trois mois après le vaccin.

L'usage de ce vaccin à cette dose est donc réservé aux femelles de 3 à 6 mois, chez lesquelles il induit parfois des arthropathies, particulièrement à l'articulation fémoro-tibial.

En réalité, la persistance des anticorps vaccinaux dépend plus de l'âge et de la dose de vaccin que de la voie d'administration. Lorsqu'on l'injecte à dose réduite, il y a moins d'interférences avec les tests sérologiques.

Il est possible par exemple de l'administrer en sous cutané à la dose de 0,3 à 3 milliards de bactéries, pour les vaches adultes. Le degré de protection est alors supérieur que lors d'une vaccination à 4-10 mois mais il y a plus de chances que la vache réponde positivement aux tests sérologiques. En effet, certains animaux développeront des titres en anticorps persistants, et des avortements peuvent survenir, ainsi que l'excrétion de souche vac

On utilise enfin la voie conjonctivale pour les animaux de tous âges, avec deux administrations de 5-9 milliards de bactéries vivantes, à six mois d'intervalle : la première à 6-10 mois, en SC ou conjonctivale, et la deuxième à 10-16 mois, toujours en conjonctivale.

Ce protocole assure une bonne protection sans réponse en anticorps persistants, et il réduit le risque d'avortement et d'excrétion dans le lait.

Ces différents protocoles ont tous une grande efficacité et un large éventail d'utilisation. Cependant, les bovins vaccinés peuvent parfois résister à l'infection tout en disséminant la souche d'épreuve en quantité et pendant une longue période, et les animaux sensibles non vaccinés peuvent alors être infectés. Il est donc important de vacciner tous les animaux pour épuiser le relais par lequel *Brucella abortus* se perpétue.

En résumé, les bactéries se comportent comme une souche atténuée lorsqu'elles sont administrées à des bovins non pubères. Cependant, dans de rares cas, il peut se produire des infections locales du tractus génital. Une réponse en anticorps persistants six mois ou plus se produit chez une proportion substantielle de bovins vaccinés selon les doses adultes. Enfin, quelques veaux adultes développeront plus tard des arthropathies, sur tout à l'articulation fémoro-tibiale. Ce vaccin est donc sans danger pour la plupart des animaux si administré aux veaux entre 3 et 8 mois. Chez les adultes, il faudra utiliser des doses réduites.

La durée précise de la protection est inconnue. La protection contre *Brucella Melitensis* est peu évidente. La réversion vers la virulence est très rare.

Le vaccin RB51 est devenu le vaccin officiel pour la prévention de la brucellose bovine dans plusieurs pays. Chaque pays utilise cependant des protocoles de vaccination différents.

Il a été reporté que ce vaccin induisait des placentites sévères et des infections du placenta chez la plupart des animaux, et qu'une excrétion de bactéries dans le lait existait chez une part importante de la population vaccinée. Son inoculation à des femelles gravides peut également provoquer des avortements. L'utilisation de la dose réduite permet de supprimer ces problèmes, mais n'est alors efficace que chez des animaux adultes.

L'avantage de ce vaccin est qu'il ne se produit pas de séroconversion des animaux vaccinés car la souche utilisée n'a pas de LPS. Cependant, lorsqu'il est administré en dose réduite, il faut répéter les injections, ce qui peut mener à une réponse en anticorps interférant avec les tests sérologiques.

Il permet une immunité durable mais pendant une durée inconnue. Il n'y a pas de réversion possible, mais il peut exister une virulence chez l'Homme, dont la gravité est mal connue.

Pour les petits ruminants, une prophylaxie médicale est justifiée dans les régions fortement infectées, où elle est la seule méthode de lutte économiquement utilisable. Elle peut aussi compléter la prophylaxie sanitaire quand le taux d'infection est élevé, mais elle est à proscrire en région indemne ou peu infectée. Le vaccin le plus efficace est un vaccin à agent vivant préparé à partir de la souche **REV1** de *Brucella melitensis*, qui a un pouvoir pathogène atténué pour les petits ruminants.

Son inoculation provoque une hyperthermie transitoire avec anorexie passagère, et parfois une réaction inflammatoire au site d'inoculation. La souche persiste ensuite dans l'organisme. Mais elle est labile en conditions naturelles et doit donc être conservée au frigo.

Une seule injection sous cutanée ou conjonctivale aux jeunes femelles de 3-6 mois assure une protection pendant plusieurs années, avec une réponse sérologique limitée qui n'empêche pas le dépistage sérologique de l'infection des adultes.

La dose classique en sous cutanée est de 10-20 milliards de bactéries : les anticorps persistent alors deux ans. Cette même dose injectée par voie conjonctivale entraîne une persistance des anticorps pendant seulement quatre mois. [**OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. 2004**].

Il existe deux stratégies vaccinales :

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

Chapitre: V

Partie

expérimentale

Introduction :

La brucellose est une maladie contagieuse des animaux d'élevage due aux bactéries du genre *Brucella*, qui touche les bovins, les porcs, les ovins et les caprins, les équidés, les camélidés et les chiens. C'est aussi une zoonose (maladie animale transmissible à l'homme) et une maladie humaine à déclaration obligatoire.

La brucellose se propage généralement au moment de l'avortement ou de la mise bas. On trouve des concentrations élevées de bactéries dans les eaux fœtales provenant d'un animal infecté. Les bactéries peuvent survivre pendant plusieurs mois hors de l'organisme de l'animal, dans le milieu extérieur, en particulier dans des conditions froides et humides. Les bactéries peuvent aussi coloniser le pis et contaminer le lait. Un autre mode de transmission de l'agent aux animaux et à l'homme est sa pénétration par la peau ou les muqueuses.

La contamination de l'homme s'opère de différentes manières. Le plus souvent, la transmission à l'homme se produit par ingestion de produits laitiers frais (lait cru) provenant d'animaux infectés par la bactérie.

Elle peut aussi se produire par contact avec des animaux ayant la brucellose : c'est le cas surtout des éleveurs, des vétérinaires et du personnel des abattoirs exposés à l'infection en manipulant les animaux infectés, les avortons et les placentas (agriculture.gouv.fr).

I. Objectifs du travail :

La persistance de la brucellose en Algérie et les lourdes pertes économiques engendrées par cette maladie qui altère aussi la santé humaine, nous a conduit à réaliser cette étude épidémiologique, dont l'objectif de notre étude de brucellose au niveau de la wilaya Tiaret, une expérimentale est complétée par une étude rétrospective au niveau de la wilaya de Tiaret et ce durant la période allant de l'année 2016 à l'année 2020.

Les vétérinaires de terrain procèdent aux prélèvements de sang à partir de la veine jugulaire caudale. À partir des animaux identifiés. Ces prélèvements portant tout les renseignements, sont orientés sous froid au laboratoire accompagnés d'une fiche commémorative détaillée. Au niveau de service bactériologique (unité sérologie), le sérum est recueilli par centrifugation à 3000 tours/minute. (Koutinouin, 2003).

1. Localisation et présentation de la wilaya de Tiaret :

- Une wilaya depuis 1962 sa superficie 20 673 km²
- La wilaya de Tiaret compte 14 daïras et 42 communes.
- La wilaya de Tiaret est située à l'ouest de l'Algérie, la région des hauts plateaux.

C'est une région à vocation agro-pastorale., elle est délimitée :

- au nord, par les wilayas de Tissemsilt et de Relizane ;
- au sud, par les wilayas de Laghouat et de El Bayadh ;
- à l'ouest, par les wilayas de Mascara et de Saïda ;
- à l'est, par la wilaya de Djelfa.

(wikipedia.org).

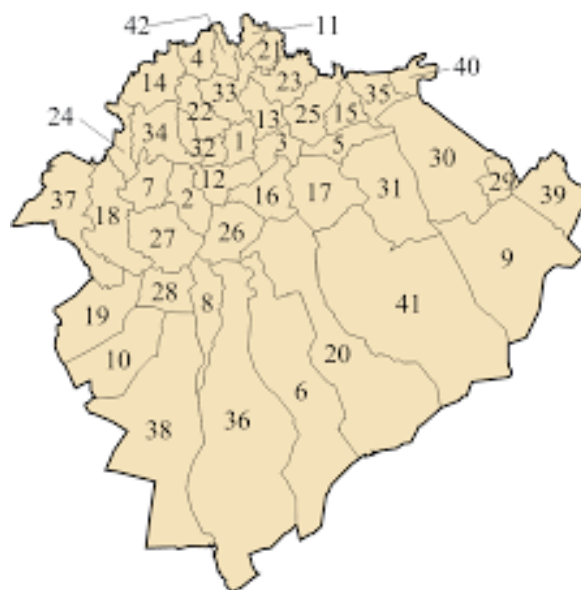


Figure n°13 : Répartition de la wilaya de Tiaret.

2. Matériels et Méthodes

Matériels

- Plaque pour agglutination
- Agitateur de plaque
- Bâtonnets en verre
- Micropipettes réglables avec embouts
- Plaque à micro cupules
- Tubes
- Pipettes graduées (1ml, 2ml, 5ml, 10ml)
- Micropipettes automatiques (calibrées ou réglables) et pointes
- Bain-marie réglable à 37°C et 60°C
- Etuve à 37°C
- Réfrigérateur à +4°C, +8°C
- Centrifugeuse
- Centrifugeuse réfrigérante
- Mer Méditerrané

Réactifs

- Antigène rose Bengale pour le diagnostic de la brucellose. Commercialisé par Porquier références : 72691, coffret de 300 tests présentés sous forme de compte goutte (1 goutte=30µ l).
- Tampon véronal (Porquier)
- Antigène antéfixe (R) (Porquier)
- Sérum de référence positif (bio-Mérieux)
- Sérum de référence négatif (bio-Mérieux)
- Sérum hémolytique (bio-Mérieux)
- Complément de cobaye lyophilisé (Lillidale-Diagnostics)

3. Etude statistique et Résultats :

Les traitements statistiques ont pour objectif de résumer l'information contenue dans un ensemble de données en quelques indices globaux possédant des propriétés intéressantes.

Nous avons eu recours à l'utilisation des tableaux pour notre étude statistique. À partir les données statiques collectées des répartitions des têtes bovines dans la wilaya en 2020; complété par des données enregistrés au cours de notre expérimentation au niveau de la DSA Tiaret, durant une période de 4 ans (2016-2020), pour toutes les communes de la wilaya de Tiaret.

	Bovin (nombres des têtes).
Tiaret	1600
Medroussa	810
Mellakou	2480
Sidi Bakhti	700
Dahmouni	1152
Boucekif	835
Sidi Hosni	860
Sebt	160
Meghila	380
Rahouia	1200
Guertoufa	1100
Oued lili	1037
Sidi Ali Mellal	109
Tidda	95
Mechraa Sfa	652
Tagdempt	710
Djillali B/Ammar	152
Mahdia	750
Sebaine	850
Ain dzarit	350
Nadhora	400
Frenda	1105
Takhmaret	606
Ain hadid	779

Souguer	1761
Si Abbelghani	1288
Tousnina	1590
Faidja	1050
Ain deheb	1869
Naima	2195
Chehaima	1789
Ain Kermes	586
Medrissa	1625
Rosfa	968
Sidi A/Rahmane	1548
Madna	433
Hamadia	913
Rechaiga	601
Bougara	274
Kasr Chellala	500
Serguine	390
Z.E.Aek	1350

Tableau III : la répartition des têtes bovines dans les communes dans la wilaya de Tiaret.

L'année.	Nombres des vaches dépiquées.	Nombre des cas.	Taux d'infection.
2014	1667	21	01.25%
2015	1779	19	01.06%
2016	2898	33	01.13%
2017	1767	84	04.76%
2018	618	07	01.13%
2019	1009	29	02.87%
2020	582	36	06.18%

Tableau IV : Étude statique des taux d'infection par rapport aux nombres des vaches dépiquées lors des dernières sept années.

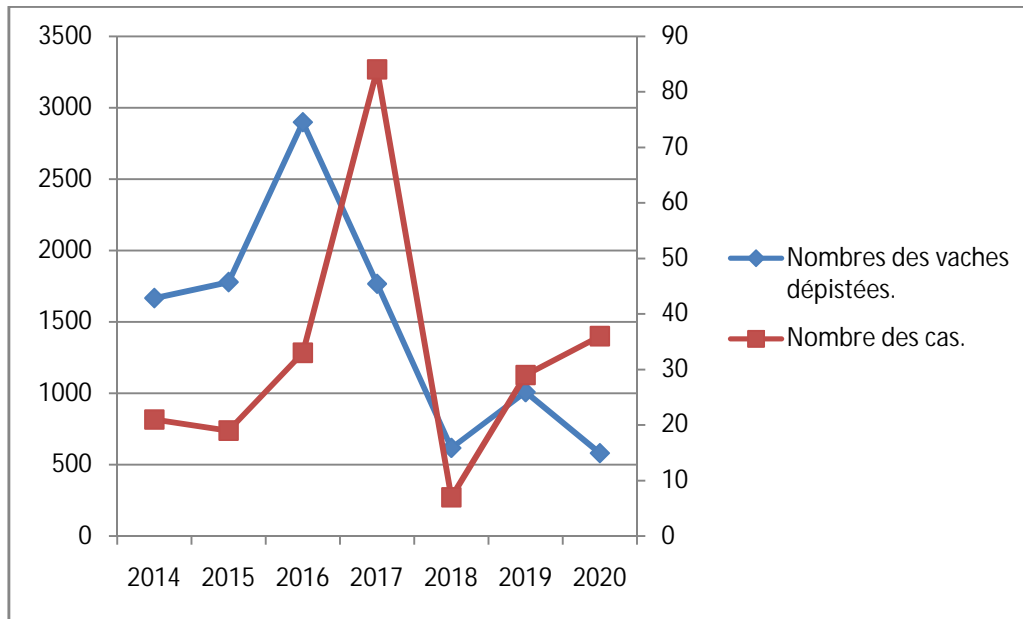


Figure n°14 : Courbe analytique du la brucellose bovine dans la wilaya de Tiaret (2014-2020)

Maladies	Communes touchées	exploitation infectées	foyers	cas	Effectif abattu	Eleveurs concernée par l'abattage	Coût Indemnisation
Brucellose	Mellakou AIN BOUCHEKIF SERGUINE ZMELT EMIR ABDELKAD ER TOUSNINA SOUGUEUR TAKHMARE T MEDRISSA SI ABDELGHA NI FAIDJA	16	16	Bv28 Cp20	Bv : 28 Cp : 01	10	2 800 650 DA

Tableau V : Étude statique des cas positive de brucellose (Direction des Services Agricoles de Tiaret aout 2020 (DSA))

Willayas	Nombres des vaches dépistées	Nombre des cas	Taux d'infection
Tizi Ouzou	3128	76	2,42
Béjaia	2510	15	0,6
Bouira	586	29	4,94

Tableau VI : Evolution de la brucellose au niveau des trois wilayas du centre de pays (laboratoires vétérinaire régionale de Draa Ben Khedda(LVR))

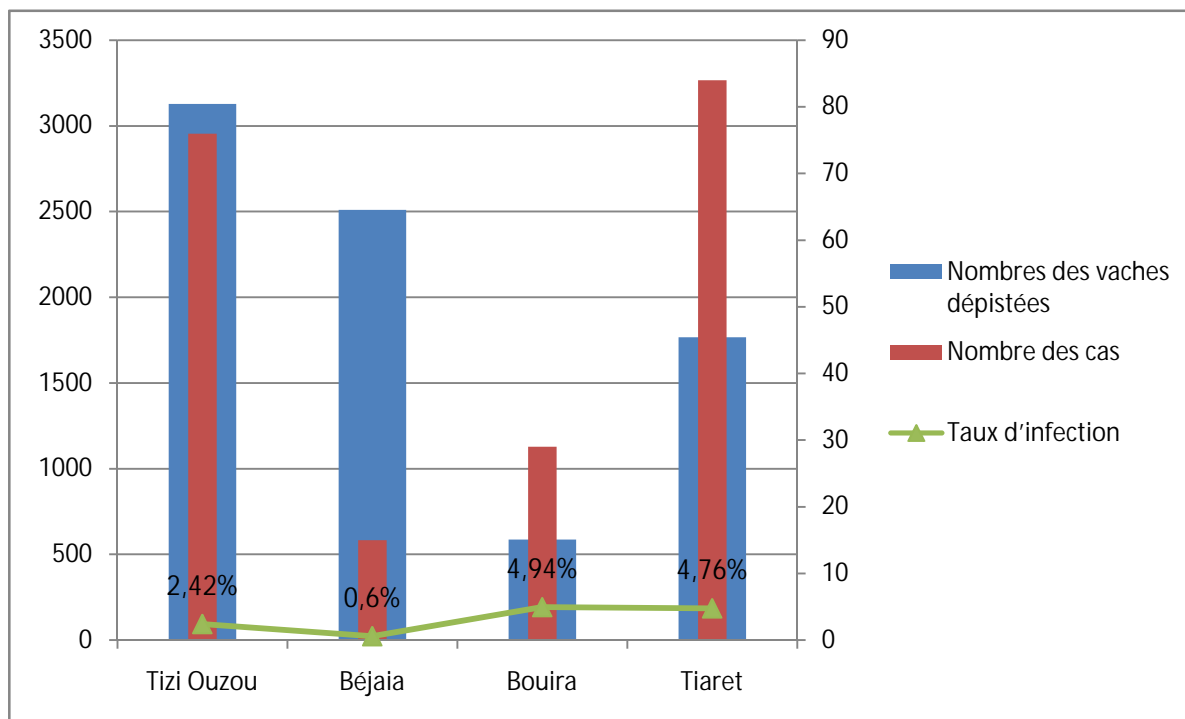


Figure n°15 : histogramme de la brucellose on 2017.

II. DISCUSSION :

La brucellose existe en Algérie depuis le début du siècle dernier. Malgré le démarrage d'un plan de lutte contre la brucellose en 1969 au niveau des Domaines autogérés du secteur public (D.A.S), au niveau de la wilaya de Tiaret précisément en 1995, Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA), notons une persistance de cette maladie qui affecte le cheptel en Algérie, particulièrement la fertilité des ruminants reproducteurs.

La maladie n'est pas périodique ou saisonnière d'apparition..

La méconnaissance de l'effectif réel qui est de 44129 têtes bovines, engendre des problèmes de dépistage ; l'identification est une opération qui doit être systématique. Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA).

Le dépistage est fait par la Direction des Services Agricoles, les prélèvements collectés sont envoyés au laboratoire régional à la wilaya de Mostaganem (pour la wilaya de Tiaret) pour les tests de confirmation.

Le début du programme de lutte contre la maladie en 1995, basé sur le dépistage/abattage, des bovins atteints 229 bovins sont abattus dans les sept dernières années Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA)

Le taux de détection de cette maladie en 2017 :

Pour la wilaya de Tiaret on a enregistré 84 cas positifs sur 1767 bovins dépistés avec un taux d'infection 4.76% Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA).

En comparant la wilaya de Tiaret à la wilaya de Bouira par rapport le nombre des bovins dépistés qui est 586, on a enregistré 29 cas positifs et un taux de positivité de 4.94%.

En comparant la wilaya de Tiaret à la wilaya de Tizi Ouzou, sur 3 128 bovins dépistés on a enregistré 76 cas et un taux de positivité de 2.42%.

En comparant la wilaya de Tiaret à la wilaya de Bejaïa, sur 2510 bovins dépistés échantillons dont 15 cas positifs et un taux de positivité de 0.6%. (Laboratoire vétérinaire régionale de Draa Ben Khedda) (LVR).

Le taux d'infection est rapproché de celles des wilayas de Bouira, Tizi Ouzou et Bejaïa mais autant que ces 3 wilayas sont à nature vocation laitière et les nombre des têtes bovines élevés dans les wilayas incluses ci-dessus sont plus grands à celui de la wilaya de Tiaret, on révèle que le taux d'infection dans la wilaya de Tiaret est trop élevé par rapport à ceux des 3 wilayas étudiés.

- l'Algérie enregistré 2006 cas positifs sur 933 foyer à l'échelle nationale en 2017 Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural (DSV).

Les nombres enregistrés sont non conforme avec les nombres réels car les éleveurs ne soumettant leurs animaux au dépistage que par obligation (agrément sanitaire pour la vente de lait et l'assurance), ce qui représente une source de contamination pour les animaux indemnes et par suite la propagation de la maladie Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA).

Les défaillances et les pertes économiques causées par la brucellose représentées par : l'abatage de bovins atteints (229 bovins abattus dans les sept dernière années), plus 2 800 650 DA des couts d'indemnisation seulement en 2020 et l'avortement des veaux et des pertes en lait. Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA).

La brucellose demeure d'actualité dans de nombreuses régions du monde, Italie : 31985 troupeaux testés dont 510 troupeaux positifs, Portugal 29764 troupeaux testés dont 64 troupeaux positifs, Espagne : 104698 troupeaux testés dont 26 troupeaux positifs en 2016 (<https://zenodo.org/record/1044742#.X8wOWGhKjcc>). Et pose un double problème sanitaire et économique. L'importance économique de la brucellose animale est surtout ressentie dans les pays pratiquant un élevage intensif, car la maladie entraine non seulement des pertes de production : avortement, mortinatalité, stérilité, allongement de l'intervalle entre les vêlages, baisse de la production lactée, soins vétérinaires.

Au cours de notre expérimentation, Pour la wilaya de Tiaret sur un effectif de 10320 bovins qui ont été dépistés dans les cinq dernières années, 229 cas positifs enregistré, soit un taux de 2.21% Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA), pour l'ensemble de la région d'étude elle reste légèrement élevée par rapport a la wilaya de Tizi Ouzou sur 32836 bovins dépiste dont 338 cas positifs avec un taux d'infection 1.02% de 2014 à 2017 (laboratoires vétérinaire régionale de Draa Ben Khedda(LVR), et très faible par rapport a la wilaya de Médéa sur 7420 bovins dépiste dont 288cas positifs avec taux d'infection 6.10% de 2014 à 2018 Direction des Services Agricoles de Médéa . . .

Malgré les diverses mesures de lutte prise dans notre pays, la brucellose continue à propager dans nos élevage en causant d'énormes pertes économiques, plus 2 800 650 DA des couts d'indemnisation seulement en 2020 et l'avortement des veaux et des pertes en lait (Direction des Services Agricoles de Tiaret 2020 (DSA), et de nombreux cas humains enregistrés chaque année 12cas on 2014 et 18 cas en 2015 à Guelma selon la direction de santé et de la population(DSP).

Les programmes de lutte n'ont pas donnés leurs fruits car ils sont limités par la mauvaise conduite de nos élevages ainsi que le manque de sensibilisation de nos éleveurs et l'insuffisance des moyens mis en œuvre.

L'éradication d'une maladie zoonotique telle que la brucellose est l'objectif final de tout programme de lutte, dont il faut mobiliser tout les moyens humains et financiers nécessaires pour aboutir à cet objectif.

III. CONCLUSION :

La pasteurisation du lait permet de prévenir la brucellose. Le fromage provenant de lait non pasteurisé de < 3 mois peut être contaminé.

Les personnes manipulant des animaux ou des carcasses susceptibles d'être infectés doivent porter des gants en caoutchouc et des lunettes et se protéger d'éventuelles lésions cutanées par souillure bactérienne. Des programmes de détection de l'infection chez les animaux, d'élimination des animaux infectés et de vaccination des jeunes bovins séronégatifs sont imposés aux dans plusieurs autres pays.

Il n'existe aucun vaccin humain; l'utilisation du vaccin animal (une préparation du vaccin vivant atténué) chez l'humain peut provoquer une infection. L'immunité après infection humaine est de courte durée, durant environ 2 ans.

Référence bibliographique :

- **ACHA N.Pedro, SZYFRES Boris** Zoonoses and communicable diseases common to Man and Animals – Volume1: Bacterioses and Mycoses. 3^{ème} édition. Office International des Epizooties. 2005.
- **ALAZART P (1986)** : Déceler les premiers signes de la brucellose.
- **ALTON J.J PLOMMET M** : Brucellose : le sommet de Genève Chronique OMS, **1986**, 40, 20-22
- **ANONYME ; 2007** : Brucellose. Edit 2007. « [http : //fr.wikipedia.org./wiki/Brucellose](http://fr.wikipedia.org/wiki/Brucellose) ».
- **ANONYME** : Animaux de rente : risque sanitaire pour l'homme. La Dépêche Vétérinaire, **1988** suppléments techniques n3, 3.
- **BLOOD DC ; et HENDERSON JA ; 1979** ; Médecine vétérinaire. In : les avortements d'origine infectieuse. AKLIL A ; ALILAT R ; et HABET K ; mémoire de fin d'étude. Ecole nationale vétérinaire, Alger, 2006, page 98.
- **BLOOD D.C et HENDERSON J.A (1976)** : Médecine vétérinaire Vigot frères éditeurs, 2eme édition française d'après la 4^{ème} édition anglaise.
- **BOHADID R ; 2004** : Évaluation du dispositif de lutte contre la brucellose bovine et mise en place d'un réseau de surveillance dans la wilaya de Constantine. Thèse de fin d'étude, Constantine, page 66.
- **CAMERON.H.S. (1932), KUZDAS, C.D and MORSE, E.V (1954)**:Médecine et chirurgie des bovins, Vigot frères éditeurs 1^{ère} édition.
- **COMITE MIXTE FAO/OMS D4EXPERTS DE LA BRUCELLOSE** : Sixième rapport, OMS Eds, Genève, 1986, 740, 145pp.
- **CRAPLET. C and THIBIER.M (1980)**:Le mouton, reproduction – génétique alimentation maladies tome 4.
- **ECOLLES NATIONALES VETERINAIRES FRANÇAISES** (enseignants de maladies Contagieuses) La Brucellose. Edition 2003.
- **ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**: Contribution à l'étude épidémiologique de la brucellose dans la province de l'Arkhangai (Mongolie) Chpt2 ; P 42-55.
- **FENSTERBANK R** : Rapport de synthèse : Brucellose des bovins et des petits ruminants : Diagnostic, prophylaxie et vaccination, in : Brucellose des bovines, ovins et caprins, série technique n°6, OIE Eds, **1987**,286pp.
- **FROBISHER. M et FUERST. (1976)** : Microbiologie clinique_ les éditions H R W.
- **GARIERE J.P** : la Brucellose animale. Document des Ecole Nationales Vétérinaires de France, Chaires de maladies contagieuses **2000**, 89pp
- **GARIN-BASTUJI B,** : Le dépistage de la brucellose des ruminant et ses difficultés. Le cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. Point Vét, **1993**, 25, 23-32
- **GARIN- BASTUJI ; 1993** : Brucellose bovine, ovine, caprine : contrôle et prévention. Point vétérinaire, n°25. Pages 15-22.
- **GODFROID J; AL-MARIRI A ; WALRAVNSK ET LETESSON JJ ; 2003** : Brucellose bovine. In : Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail, Europe et régions chauds. tome2 (éd. Lefèvre P.C, Blanco J & Chermetter R), édition Lavoisier, Paris, London, New Yourk, pages 867-868.
- **HUNGERFORD T.G.** : Brucellosis of cattle, in:6th Diseases of livestock,Ed; Angus and Robertson Eds., Sydney, Australia, **1967**. 191-195.
- **JEAN-PIERRE GANIERE, ENVN. (2004)** : La brucellose animale.

- **LAMBIN. S et GERMNAN. A (1969) :** Précis de microbiologie_ techniques microbiologiques_ tome 1.
- **LE MINOR.L et VERON.M, (1989) :** Bactériologie médicale.LARPENT et LARPENT GOURGAUD, (1997) : Mémento technique de microbiologie.
- **LEFEVRE Pierre-Charles, BLANCOU Jean, CHERMETTE René** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail (Europe et Régions Chaudes) Editions Tec et Doc, Editions Médicales Internationale. Londres, Paris, New York. **2003**
- **LEON FC; FERRI EFR ; et VALDIVIA EM ; 2003 :** Principales maladies infectieuses parasitaires du bétail d'Europe et des régions chaudes, Brucellose ovine et caprine tome2. Ed. Médicales internationales. Pages 891-902.
- **MANTHEI. C. A (1950) :** Médecine et chirurgie des bovins, Vigot frères éditeurs lere édition.
- **MEYER. M. E. (1966):**Médecine et chirurgie des bovins, Vigot frères éditeurs.
- **PEDRO N. ACHA, BARIS SZYFRES ; 1989 :** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux ; 2^{ème} édition (office international des épizooties). Pages 14-36.
- **PILLY E :** Brucelloses, in : Maladies infectieuses à l'usage des étudiants en médecine et des praticiens, 10i^{ème} édition, Eds.C. et R., La Madeleine, **1988**, 179 – 184.
- **POUILLOT R ; GARIN-BASTUJI B ; DUFOUR B ; 1998 :** Quelques clés pour le diagnostic de la brucellose bovine dans un contexte de réactions sérologiques faussement positives. Point vétérinaire, n°29, pages 57-61.
- **VERGER J.M :** Editorial. Point Vét, **1993**, 25, 1-3.
- **RADOSTITS OM ; GAY CC ; BLOOD DC ; et HINCHLIFF KW ; 2000 :** Brucellosis caused by *Brucella abortus*. In : Veterinary medicine- a text book of the diseases of cattle, sheep, goats and horses. 9th ed. W.B Saunders Campany, pages 867- 881.
- **ROUX J :** Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bull. OMS, **1979**, 57, 179-194.
- **ROUX J. :** Brucella, in: Bactériologie édicale, 2ième Edition, Le Minor L & Véron M; Eds., Médecine sciences, Flammarion, Paris, **1989**, 651 – 668.
- **TOMA ; 2001 :** Épidémiologie et santé animale. Page 40.-TOMA .B; 2002 : Documents polycopies des 4 écoles nationales vétérinaires françaises, Mérial, 2002,73 p .facultatif.
- [<http://www.microbes-edu.org/index.html>]
- **DSA DE TIARET ;** Direction des Services Agricoles 2020
- **DSP ;** la direction de santé et de la population en 2015
- **LVR ;** laboratoires vétérinaire régionale de Draa Ben Khedda;2017
- **DSA de Médéa ;** Direction des Services Agricoles2018
- <https://zenodo.org/record/1044742#.X8wOWGhKjcc>
- **DSV ;** Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural2017