**Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaire de Mme Lounes Nedjma**

**Étude des propriétés biologiques des brucella responsables de la maladie et leur distribution en Algérie**

**Alger, École Nationale Supérieure Vétérinaire : 2016**

**Résumé** :

La brucellose est une maladie infectieuse, contagieuse, commune à de nombreuses espèces animales et à l’Homme. Elle sévit sous forme endémique dans la plupart des régions du monde. En Algérie, toutes les données relatives à la brucellose, sont issues d’enquêtes sérologiques. Très peu d’études rapportent l’isolement, l’identification et la distribution des souches de Brucella existantes dans notre pays. Ce qui nous a conduit donc à mener notre étude ayant pour objectifs, d’identifier les souches de Brucella responsables de la brucellose bovine en Algérie ; d’établir la distribution épidémiologique de ces souches isolées, de détecter le genre Brucella par PCR en temps réel (PCR-TR) et de procéder à leur typage moléculaire afin de les comparer aux souches humaines déjà isolées. Notre étude s’articule autour de deux parties : la première est la caractérisation phénotypique des souches bovines algériennes et la deuxième est la caractérisation moléculaire des souches maghrébines animales et humaines. Dans la première partie, d’octobre 2011 à mai 2014, nous avons étudié 161 bovins séropositifs, issus de 13 wilayas, des quatre régions d’Algérie : Centre, Ouest, Est et Sud. Ces derniers ont fait l’objet de 298 prélèvements, dont 109 prélèvements de lait et 189 de ganglions lymphatiques; grâce au réseau national vétérinaire, que nous avons mis en place avec la collaboration des services vétérinaires. La caractérisation phénotypique a été réalisée selon la norme française AFNOR NF U47-105. La sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été testée par la méthode E-test pour 6 antibiotiques. Puis, nous avons effectué une recherche du genre Brucella par la méthode PCR en temps réel sur 84 prélèvements de ganglions lymphatiques prélevés sur 48 bovins séropositifs. Nous avons pu isoler 97 souches de Brucella à partir de 41 ganglions rétro-mammaires, 35 laits, 18 ganglions rétro-pharyngiens et 3 inguinaux. Ces souches ont été identifiées dans 87% à B. abortus et dans 13% à B. melitensis. Parmi lesquelles 77 souches sont typées en biovars : 86% en B. abortus bv 3, 10% en B. melitensis bv 2, 3% en B. melitensis bv 3 et 1% en B. abortus bv 2. B. abortus bv 3 est le biovar dominant, retrouvé dans toutes les régions étudiées, alors que B. melitensis bv 2 est isolé principalement à l’Ouest. C’est la première fois que B. melitensis bv 2 et B. abortus bv 2 sont rapportées dans la région du Maghreb. Nous avons détecté 4 souches de B. abortus bv 3 résistantes à la streptomycine. La détection des Brucella par la méthode PCR-TR sur 84 noeuds lymphatiques révèle un taux de positivité de 38% vs 34,5 % pour la bactériologie. La PCR-TR semble donc plus sensible que la bactériologie. Comme pour la bactériologie, les ganglions rétro-mammaires sont les plus fréquemment infectés par Brucella. Dans la deuxième partie, nous avons comparé le génotype de la souche B. melitensis bv 3 bovine, à 02 souches ovines et 87 souches humaines de B. melitensis bv 3. Ces souches isolées durant une période de 25 ans (de 1989 à 2014), d’origines algérienne (56), marocaine (14), tunisienne (13) et au sens large maghrébines (7) quand l’origine exacte est indéterminée. Puis, nous avons comparé les génotypes des souches B. abortus bv 3 bovines, à une souche humaine B. abortus bv 3 de d’origine algérienne d’un cas importé en France. Un total de 90 souches maghrébines de B. melitensis bv 3, et 16 souches algériennes de B. abortus bv 3 ont été analysées par la méthode MLVA-16. Les résultats obtenus ont été comparés aux génotypes publiés des souches de B. melitensis bv 3 européennes et B. abortus bv 3 européennes et africaines. L’analyse moléculaire des B. melitensis bv 3 montre que les souches algériennes sont réparties principalement en deux clusters distincts, un cluster algéro-marocain relié à un sous-cluster européen et un cluster algéro-tunisien. Ces résultats suggèreraient l’existence de deux lignées, une résultant des échanges socio-économiques et historiques entre l’Algérie et l’Europe qui aurait pu évoluer distinctement de la deuxième lignée Maghrébine autochtone. L’analyse moléculaire des B. abortus bv 3 répartie les souches en deux clusters : un cluster africain et un cluster algéro-européen. Ce qui montre une proximité phylogéographique des souches algériennes et européennes, suggérant que l’origine de la brucellose bovine en Algérie pourrait être en lien avec l’importation d’animaux infectés à partir d’Europe. Notre étude constitue la première enquête moléculaire sur les souches B. melitensis bv 3 circulant au Maghreb et les souches B. abortus bv 3 circulant en Algérie.

**Abstract:**

Brucellosis is an infectious, contagious disease common to many animal species and humans. It occurs endemic in most regions of the world. In Algeria, the epidemiological known and the available previous data in brucellosis were based only on serological surveys. Up today, little studies report the isolation, identification and distribution of Brucella strains existing in Algeria. Hence, the prevailing species and biotypes of Brucella in Algerian livestock are not yet known in our country. That is why, our study aims to isolate and to identify the different biotypes of Brucella prevailing in Algeria from infected cattle in order to establish their distribution, to detect the genus Brucella by real-time PCR (RT-PCR) and define their genotypes which were comparing to the human isolated strains. Our study is based on two parts: the first concern the phenotypic characterization of Algerian bovine strains and the second concern the molecular characterization of Maghrebians animal and human strains. In the first part, we have studied between October 2011 and May 2014, 161 naturally infected cattle coming from 13 departments, in the four regions of Algeria : Center, West, East and South. They were subjected to 298 samples, including 109 milks and 189 lymph nodes thanks to the national veterinary network, we have set up with the collaboration of veterinary services. Brucella strain identification was performed according to the technique described by the French standard AFNOR NF U47-105. The sensitivity of the isolated strains to six antibiotics was tested by E-test method. A total of 97 strains of Brucella were isolated, 41 from supramammary lymph nodes, 35 from milks and 18 from retropharyngeal and 3 from inguinal lymph nodes. This strains identified in 87% to B. abortus and in 13% to B. melitensis. Among 77 strains typed to biovars: 86% to B. abortus bv 3, 10% to B. melitensis bv 2, 3% to B. melitensis bv 3 and 1% to B. abortus bv 2. B. abortus bv 3 is the dominant biovar, found in all the studied regions, while B. melitensis bv 2 is essentially isolated in the west. It is the first time that B. abortus bv 2 and B. melitensis bv 2 were isolated from a region of the Maghreb. It is noteworthy that four of the isolated Brucella abortus bv 3 strains were found to be resistant to streptomycin. Then we searched the Brucella genus by RT-PCR on 84 samples of lymph nodes taken from 48 seropositive cattle. The detection of Brucella by RT -PCR method of 84 lymph nodes reveals a positivity rate of 38% vs 34.5% for bacteriology. RT-PCR seems more sensitive than bacteriology. As for bacteriology, retro-mammary lymph nodes are most commonly infected with Brucella. In the second part, we have compared the genotype of the B. melitensis bv 3 bovine strain to two ovine and 87 human strains of B. melitensis bv 3. These strains isolated over a 25 year-period (1989–2014), all have a Maghreb geographical origin: 56 strains from Algeria, 14 strains from Morocco, 13 strains from Tunisia and 7 strains from largo sensu Maghreb (when the country origin was not clearly determined). Then, we compared the genotypes of bovine B. abortus bv 3 strains, to a human strain of B. abortus bv 3 of an imported case in France from Algerian origin. A total of 90 B. melitensis bv 3 Maghreb strains and 16 B. abortus bv 3 Algerian strains were analyzed by MLVA-16. The obtained results were compared with genotypes of European B. melitensis bv 3 strains, and African and European B. abortus bv 3 strains. Molecular assays of B. melitensis bv 3 strains showed that Algerian strains were mainly distributed into two distinct clusters, one Algerian cluster related to European sub-cluster. These results led to suggest the existence of a lineage resulting from socio-historical connections between Algeria and Europe that might have evolved distinctly from the Maghreb autochthonous group. Molecular assays of B. abortus bv 3 strains distributed the strains on two clusters: an African cluster and an Algerian-European cluster. This shows a close phylogeographical Algerian and European strains, suggesting that the origin of bovine brucellosis in Algeria could be linked to the importation of infected animals from Europe. This study is the first molecular investigation regarding to B. melitensis bv 3 strains circulating in the Maghreb and B. abortus bv 3 strains circulating in Algeria.