**Brucella**

Dr M.Benkhemissa

4ème année pharmacie

Mai 2021

**I) Introduction :**

Les brucella sont des petits coccobacilles à Gram négatif responsables d’une zoonose transmissible à l’homme : la brucellose (fièvre de malte)

Certaines professions sont exposées, comme les agriculteurs, les éleveurs, les vétérinaires, les personnels des abattoirs et des laboratoires

Agent potentiel de bioterrorisme (agent biologique de classe 3)

C’est une maladie à déclaration obligatoire

**II) Taxonomie :**

Le genre Brucella fait partie de la famille de *Brucellaceae*, et il comprend 9 espèces classées sur des critères culturaux, métaboliques, et antigéniques et de sensibilité aux phages :

*Brucella melitensis* : subdivisé en 3 biovars (1, 2,3), retrouvée chez la chèvre et le mouton

*B.abortus* : 8 biovars, retrouvée chez les bovins

*B.suis* : 5 biovars, retrouvée chez le porc et le lièvre

*B.canis* : chez le chien

*B.ovis* : chez les ovins

*B.neotomae* : chez les animaux sauvages (chevreuil, caribou, renne)

*B.ceti, B.pinnipedialis, B.microti*

Les 4 premières espèces sont pathogènes pour l’homme.

**III) Epidémiologie :**

*B.melitensis* et *B.abortus* sont les espèces le plus souvent en cause en pathologie humaine

La brucellose est de répartition mondiale, elle demeure endémique dans certains pays du bassin méditerranéen, au moyen orient, en Asie et dans certains régions d’Afrique et d’Amérique latine**.**

**Habitat et réservoir :** L’homme n’est qu’un hôte accidentel des brucelles, qui sont les agents d’une zoonose pouvant atteindre presque tous les animaux sauvages et domestiques, on ne connait pratiquement pas d’espèce animale résistant à l’infection, d’où la dispersion mondiale de l’infection.

Toutes les espèces de brucella sont pathogènes pour les animaux et certains le sont pour l’homme.

**Transmission :**

1- les animaux : la brucelle est une maladie de la reproduction (localisation de la bactérie principalement dans les organes génitaux et les glandes mammaires), lors de l’avortement la contamination est très importante.

2-l’homme :

La dissémination se fait à partir des exploitations agricoles, l’excrétion par les animaux (lait, placenta, produits d’avortement) joue un grand rôle

Les brucelles sont très résistantes dans le milieu extérieur

^^Directe : - pénétration de la bactérie par voie cutanée ou muqueuse favorisée par des blessures ou des excoriations : par contact avec des animaux malades, des carcasses, des produits d’avortement, par contacte accidentel au laboratoire

 - inhalation d’aérosols contaminés : abattoir, une étable, ou laboratoire

^^Indirecte : par ingestions d’aliments contaminés : lait cru, fromage frais de fabrication artisanale

**IV) Caractères bactériologiques :**

1) Morphologiques :

Ce sont de très petits coccobacilles à Gram négatif, immobiles, acapsulé, asporulés.

Leur génome est formé de 2 ADN circulaire

2) Culturaux :

Bactérie aérobie stricte, exigeante, caractérisée par la lenteur de la croissance en primoculture.

L’isolement nécessite l’utilisation des milieux enrichis en sang et une atmosphère contenant 5-10% de CO2.

Certains biotypes exigent : la thiamine, la niacinamide, la biotine.

Les Brucella cultivent à des PH : 6,6- 7,4, et à une température optimale de 34 0 C.

En milieu liquide, elles déterminent un trouble homogène en 2-4 jours, et en milieu solide, les colonies apparaissent en 2-3 jours, elles sont rondes, translucides, à bords réguliers.

La croissance en présence de différentes concentrations de colorants (thionine, fuchsine) est utilisée pour l’identification des biotypes.

3) Biochimiques :

Les Brucelles sont catalase +, oxydase + (sauf *B.neotomae, B.ovis*)

La production d’H2S et l’activité uréasique varie selon les espèces, la majorité des souches pathogènes pour l’homme : uréase +

Citrate : -, indole : -, VP-, RM-

4) Antigéniques :

Le LPS : antigène le plus immunogène est caractérisé par une variation de phase à l’origine des phénotypes : lisse ou smooth (S-LPS) et rugueux ou rough (R-LPS)

Le S-LPS est retrouvé à l’état sauvage chez la plupart des espèces et biovars, B.ovis et B.canis possèdent naturellement un R-LPS

Les chaines polysaccharidiques du S-LPS présentent des réactions croisées avec d’autres bactéries : *Yersinia entrecolitica* sérotype O9, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *E.coli O157*, et certaines salmonella.

5) Sensibilité aux bactériophages spécifiques :

Il existe 4 groupes de bactériophages actifs sur Brucella en phase S :

Phage Tbilissi: actif sur B.melitensis et B.abortus

Phage Berkeley: actif sur B.melitensis

**V) Pouvoir pathogène :**

1) Physiopathologie :

La brucellose est une septicémie d’origine lymphatique.

Ce Sont des parasites intracellulaires facultatifs du système réticulohistocytaire.

Elles entrainent des réactions de défense immunitaire à médiation cellulaire avec la création d’un état d’HSR qui est responsable des lésions tissulaires.

La pathogénie est liée à l’endotoxine.

Les brucelles peuvent se multiplier à l’intérieur des macrophages par inhibition de la fusion phogolysosomiale.

B.melitensis et B.suis seraient plus virulentes que B.abortus.

L’organisme produit des AC spécifiques contre le LPS-S.

Les brucelles gagnent par voie lymphatique le premier relai ganglionnaire où elles se multiplient, de la elles essaiment par voir sanguine et lymphatique pour coloniser les organes ayant une trame réticuloendothéliale importante (moelle osseuse, ganglions, foie, rate).des localisations osteoarticulaires, glandulaires, hépatosplénique, neuromeningé peuvent survenir pendant la phase subaiguë.

2) signes cliniques :

Fièvre méditerranéenne, fièvre de Malte, fièvre ondulante :

* incubation : 1-4 semaine.
* Primo-infection aigue (brucellose aigue septicémique) : syndrome pseudogrippal, fièvre ondulante, adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie
* Brucellose subaiguë focalisée : localisations secondaires : osteoarticulaires, cardiaques, neurologiques, génito-urinaire, hépatique, ...
* Brucellose chronique : évolution > 1 an
* La mortalité < 5%
* La femme enceinte : avortements, accouchements prématurés, mort in utero

**VI) Diagnostic bactériologique :**

1) Diagnostic direct :

\*Prélèvements : - hémocultures : 3 au minimum (positives uniquement durant la phase aigüe)

 - Autres : pus, LCR, liquide articulaire, ...

\*Précautions : agent biologique 3.

\*Ensemencement : GSC, GSF sous CO2 à 35°C, milieu sélectif Farell, TSAYE.

\*Lecture : les colonies ne sont bien distinctes qu’après 72h.

 - sur GSC : colonies grisâtres, légèrement bombées, 0,5mm de diamètre (blanchâtre).

 - sur GSF : même aspect non hémolytique.

 - Farell: colonies transparentes.

Examen de la culture à la loupe à trans-illumination-oblique : permet de différencier les colonies rugueuses, et les colonies lisses.

Examen de la culture après coloration au Crystal violet :

 - colonies R : violette, les colonies S : blanchâtres

\*Identification du genre :

* Coloration de Gram
* Uréase : + (bovis -)
* Oxydase : + (neotomae, ovis, abortus biovar 3 sont -)
* Catalase +, NR+

\*Identification de l’espèce : sensibilité aux phages ou par lysotypie

\*Détermination des biovars : exigence en CO2, la production d’H2S, tests au colorants (thionine, fuchsine, safranine), agglutination à l’aide de sérums polyclonaux A et M

\*Test de sensibilité aux antibiotiques :

* Laboratoire P3
* CMI : E test
* Les antibiotiques testés : doxycycline, rifampicine, gentamycine, SXT

\*Techniques d’amplification géniques : diagnostic direct par PCR ou PCR en temps réel. Techniques sensibles et spécifiques.

2) Diagnostic indirect :

La détection des Ac spécifiques se fait en moyenne 2-3 semaines après le début de l’infection

A) Epreuve de l’Ag tamponné : EAT : (rose Bengale) :

C’est une réaction simple et spécifique, rapide sur lame utilisant une suspension de Brucella inactivée colorée par le rose Bengale. Elle met en évidence les IgG et les IgM. Elle est sensible et elle reste plus longtemps positive que l’agglutination de Wright et se positive 7 à 10 jours après le test SAW.

C’est un test de dépistage, les sérums positifs doivent être testés par des réactions quantitatives

B) Séragglutination de Wright (SAW):

Réaction d’agglutination en microplaques, met en évidence les IgM et les IgG

Utilise comme antigène une suspension de Brucella tuée.

Le sérum de patient contenant des Ac provoque une agglutination qui se traduit par un voile à la surface de la cupule, le sérum négatif se traduit par une sédimentation au fond de la cupule.

* Un titre ≥ 120 UI/ml (dilution : 1/80) : indique une brucellose active ou subaiguë
* Un titre ≤ 120UI/ml doit éveiller la suspicion et justifier un sérodiagnostic quelques jours plus tard

Cette réaction se positive tôt durant la maladie (10-15 jours) mais se négative vite

Son inconvénient et sa non spécificité (réactions croisées avec *Yersinia enterocolitica* 0 :9, *Vibrio cholerae* O : 1, *Escherichia hermanii*, *E.coli* O157, *Salmonella* O : 30 et *Francisella tularensis*)

D’autres techniques sont utilisées : l’immunofluorescence indirecte (IFI) : recommandée dans les formes tardives et chroniques de la maladie, elle est met en évidence les 3 classes d’Ig : les IgM, IgA, IgG. L’ELISA aussi.

Cinétiques des Ac :



**VII) traitement :**

1) curatif : on doit utiliser des antibiotiques à diffusion intracellulaire :

**Brucellose aigue :**

Doxycycline+ Rifampicine : 6 semaines/ ou doxycycline (6semaines) +gentamicine (10jrs)/ ou fluoroquinolone + rifampicine

Enfants avant l’âge de 8 ans : contre-indication des cyclines : Bactrim+ aminoside ou rifampicine+bactrim

Chez la femme enceinte : CI des cyclines, des aminosides, des fluoroquinolones : bactrim seul ou bactrim+ rifampicine

**Brucellose focalisées :** les mêmes associations pour des durées plus grandes : de 2-3mois minimum pouvant aller jusqu’à 6mois.

2) Prophylactique : doxycycline +rifampicine : 3 semaines

**VIII) Prophylaxie :**

* Dépistage sérologique et abattage des animaux infectés
* Mesures de protection chez les personnes exposées : bavettes, gants, lunettes...
* Traitement thermique de certaines denrées alimentaires (pasteurisation du lait)