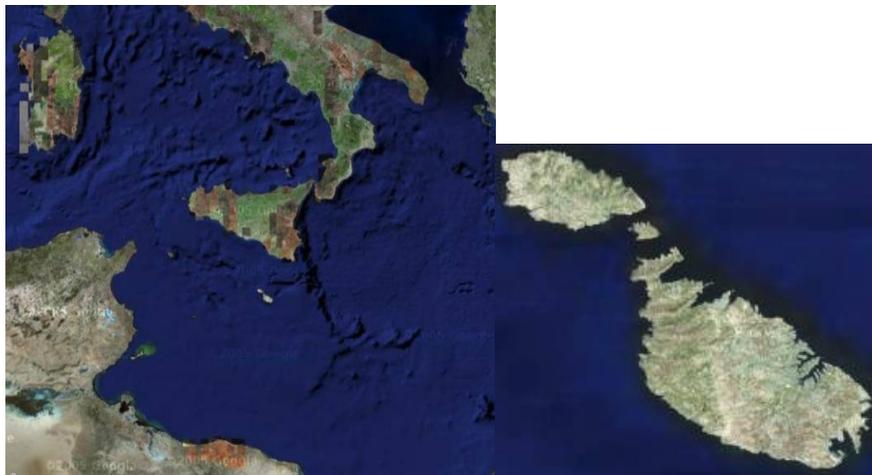


Brucella

TEXTE : HISTORIQUE

(extrait de Bactériologie médicale de FASQUELLE chez Flammarion)

L'île de Malte ayant une grande importance stratégique en Méditerranée, c'est l'Anglais Marston qui, en 1861, décrit une maladie humaine fébrile à caractère ondulant qui y sévissait.



En 1887, David Bruce isola du sang de la rate de malades décédés de brucellose un germe auquel il donna le nom de *Micrococcus melitensis*.



David BRUCE

En 1897, WRIGHT constata une agglutination du germe par le sérum des malades, le **sérodiagnostic de Wright** pour la fièvre de Malte était donc l'homologue de celui de Widal pour la fièvre typhoïde.

En 1905, ZAMITT chercha, à Malte, à réaliser une étude expérimentale de la maladie. Comme les chèvres sont nombreuses dans l'île, il eut l'idée de les choisir comme animaux d'expérience. Mais, avant toute recherche, il importait de bien connaître leurs caractères sérologiques. C'est ainsi qu'il découvrit la positivité du sérodiagnostic de Wright chez toutes les chèvres, avant qu'aucune expérience ne fût commencée. Tel fut le début de l'étude de la maladie caprine; ses conditions de développement ne furent précisées qu'ensuite.

La chèvre fait une maladie qui reste occulte, jusqu'à ce qu'elle soit conduite au bouc; elle ne porte pas jusqu'à terme: l'avortement est le premier symptôme apparent de l'infection, caractérisée en outre par la présence du germe dans l'utérus, les selles, les urines.

L'animal se remet, mais reste porteur de germes; ceux-ci sont éliminés par le lait; ils peuvent d'autre part déterminer des mammites, une atteinte latente du foie et des ganglions. Lors d'une nouvelle mise bas, qui se termine bien ou mal, ils réapparaissent dans le lait.

Ainsi, d'abord observée à Malte, la maladie, retrouvée sur toutes les côtes de la Méditerranée où foisonnent les troupeaux de chèvres, reçut le nom de **fièvre ondulante méditerranéenne**.

Les *Brucella* sont responsables de maladies animales (zoonoses) en particulier la fièvre de Malte ou fièvre méditerranéenne. C'est Sir David Bruce qui a isolé en 1887 de la rate d'un homme décédé de cette maladie la bactérie *Brucella melitensis* (appelée alors *Micrococcus*). 10 ans plus tard Wright découvre l'agglutination des *Brucella* par le sérum des animaux malades.

En 1895, Bang, vétérinaire danois, isole *B. abortus* de produits d'avortements bovins.

EN 1914, TRAUM isole, aux USA, *Brucella* de produits d'avortements porcins.

1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION

Ce sont de **très petits bacilles gram - souvent coccoïdes**, de culture difficile mais forts résistants dans le milieu extérieur, dans la terre ou le purin. Ils possèdent une oxydase et souvent une uréase. Le génome est curieusement formé de deux DNA circulaires (2,1 et 1,2 kbases). Il n'y a pas de plasmides.

Ils appartiennent au même ordre que les *Rhizobium* dans les alphaprotéobactéries (famille des *Rhizobiaceae*).

Ils sont toujours immobiles.

Leurs Ag de type O sont du LPS et possèdent des épitopes communs avec les bacilles Gram négatifs, par exemple avec [Yersinia enterocolitica O9](#), [Vibrio cholerae](#), [Francisella tularensis](#), etc. Cet épitope est constitué de 100 résidus de 4-formamido-4,6-didéoxy-D-mannopyranoside.

Bergeys :

Class I : Alphaproteobacteria	Ordre II : Rickettsiales	famille des Rickettsiales (incluant le genre Rickettsia)
		famille des Anaplasmataceae (incluant le genre Erlichia parfois élevé en famille)
	Ordre IV : Sphingomonas	famille des Sphingomonadaceae avec le genre Sphingomonas
	Ordre V : Caulobacteriales	famille des Caulobacteraceae avec le genre Brevundimonas
	Ordre VI : Rhizobiales	famille des Brucellaceae avec le genre Brucella)
		famille des Rhizobiaceae (genres Rhizobium...)
famille des Bartonellaceae (genres Bartonella...)		



2. HABITAT ET POUVOIR PATHOGÈNE

2.1. Généralités

Brucella infecte de très nombreuses **espèces animales**, causant d'importantes pertes dans les élevages. L'homme est un hôte accidentel qui excrète peu de *Brucella* et n'intervient donc pas dans la chaîne épidémique. La brucellose est donc une **zoonose** avant d'être une anthroozoonose. On peut considérer à peu près que :

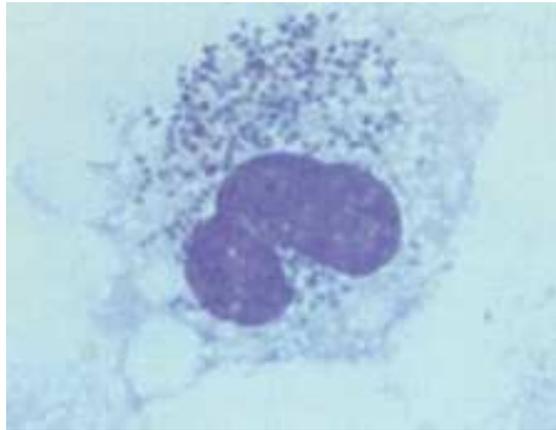
- ***Brucella abortus*** les bovins
- ***Brucella melitensis*** infecte les caprins et les ovins
- ***Brucella suis*** les porcins

Elle atteint tant les animaux domestiques que les animaux sauvages. Le lièvre est un facteur de dissémination important.

Toutefois, l'homogénéité génétique des *Brucella* est grande : les hybridations DNA:DNA montrent 90% d'homologie. On doit donc considérer qu'il n'y a qu'une seule espèce et que les noms donnés sont donc des biovars ou des sous-espèces.

Les *Brucella* envahissent par la voie lymphatique et se multiplient dans les phagocytes en **inhibant la fusion lysosome-phagosome**. L'acidification du phagosome induit l'expression d'un système de sécrétion de type IV (VirB) : les produits de sécrétion semblent être, si j'ai bien compris, des marqueurs membranaires du trafic intracellulaire du réticulum endoplasmique. Les lysosomes ne peuvent alors fusionner avec la vacuole d'endocytose et ne peuvent donc détruire les bactéries qui vont se multiplier dans la vacuole.

L'immunité cellulaire est essentielle avec formation de granulomes où des macrophages activés par des Lymphocytes T tentent de tuer les *Brucella*. La physiopathologie est dominée par l'**hypersensibilité retardée (HSR) au LPS** qui est la cause fondamentale des troubles surtout chroniques. Elle est due à des foyers résiduels cachés.



Multiplication de *Brucella* dans un macrophage

Fig. 25-1. Cultured human monocyte-derived macrophage infected with *Brucella melitensis*. The bacteria, which replicate in phagolysosomes, have a coccobacillary appearance (eosin Y?methylene blue?azure A, original magnification x 1,000). Photograph: Courtesy of Robert Crawford, Ph.D., Senior Scientist, American Registry of Pathology, Washington, DC.

2.2. Chez les bovins



Infection placentaire vers le 5^e mois entraînant des avortements chez la vache, **infection testiculaire** chez le taureau. Les *Brucella* se transmettent entre vache et génisse au niveau de l'accouchement : elles sont probablement plus ou moins commensales de l'appareil génital. La maladie peut d'ailleurs être inapparente.

Une immunité importante s'installe après la maladie chez la vache qui peut donc avoir d'autres veaux même en cas de nouvelle infection.

La France est indemne depuis 2005. Dans les années 1970, 35% des troupeaux étaient contaminés.

2.3. Chez les caprins



Chèvre : **infection génitale** d'origine septicémique entraînant des avortements avec guérison spontanée possible ou passage à la chronicité l'infection étant alors localisée au niveau des glandes mammaires avec excrétion continue des *Brucella* dans le **lait**, ce qui est évidemment très dangereux pour les produits laitiers.

2.4. Chez les ovins



Mouton : la guérison spontanée est la règle. Le bélier est atteint de façon définitive et est cause de dissémination. Par contre la brebis montre une immunité durable.

On peut donc considérer les Brucelloses comme une infection sexuellement transmissible (IST).

Les *Brucella* sont des sortes de gonocoques animaux.

2.5. Chez les porcins



Porc (et sangliers) : le mâle (verrat) se contamine chez la femelle infectée, souvent infectée par la saillie d'un sanglier. L'immunité s'installe mais les porcs sont porteurs asymptomatiques. Il s'agit donc aussi d'une IST. Des avortements, métrites et orchites sont observés.

2.5. Chez l'homme

La Brucella la plus fréquente est *B. melitensis*.

La porte d'entrée est soit **cutanée** (contact avec les placenta contaminés par ex. - soit 75 % des cas) soit **digestive** (laits ou fromages contaminés, légumes cultivés sur fumier contaminé - soit 25 % des cas).

La bactérie s'installe dans un foyer local puis dans un ganglion lymphatique avant de disséminer par la lymphe et le sang. Ce n'est qu'à ce moment là que les symptômes apparaissent : la maladie s'installe de façon insidieuse par une **asthénie** et une **fièvre ondulante** marquée par des sueurs importantes.

Elle peut évoluer vers des formes aiguës ostéoarticulaires puis (ou) vers des **formes chroniques** (marquée par une patraquerie brucellienne). Ces formes sont liées à la persistance dans des macrophages cachés de *Brucella*. Il y a donc une certaine incapacité du système immunitaire des malades à détruire tous les foyers et une réaction d'hypersensibilité au germe.

L'immunité est à la fois cellulaire (lymphocytes T) et moléculaire (probablement peu active), la bactérie ayant une multiplication essentiellement intracellulaire. L'hypersensibilité est une des causes majeures des troubles observés.

En France, l'incidence est très faible en 2010. Il n'y a pas de transmission interhumaine. En 2013, les cas observés sont essentiellement d'importation avec une contamination de laboratoire.

(1978 : 800 cas déclarés

2012 : 32 cas déclarés (en majorité import en particulier du Maghreb))

Voir : <http://www.invs.sante.fr/fr/layout/set/print/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Zoonoses/Brucellose/Donnees-epidemiologiques/Brucellose-Donnees-epidemiologiques-2013/?print=1&.pdf> et

<http://www.inrs.fr/eficatt/eficatt.nsf/%28allDocParRef%29/FCBRUCELLOSE?OpenDocument>

3. ISOLEMENT

ATTENTION : **la manipulation est DANGEREUSE**. La Brucellose est une maladie professionnelle pour les laborantins. Les *Brucella* sont classés dans le **groupe 3** pour une manipulation en conditions de sécurité importante. Les *Brucella* peuvent traverser la peau saine.

Les *Brucella* sont aérobies strictes. Certaines souches **exigent CO₂** (*B. abortus*).

La culture des *Brucella*, toujours auxotrophes (thiamine, niacinamide, biotine), est lente (48 heures à 4 jours en bouillon) et nécessite des peptones non inhibitrices (certaines peptones libèrent, à partir de la cystéine, du soufre inhibiteur).

L'isolement peut utiliser la GS frais de mouton, la gélose glucosée au sérum. Les *Brucella* cultivent sur Gélose Chocolat supplémentée.

Il sera rendu sélectif par addition de cycloheximide, bacitracine, polymyxine B (et éventuellement vancomycine, acide nalidixique, nystatine) pour le milieu de FARRELL (voir OXOID). On peut utiliser le milieu de Thayer et Martin.

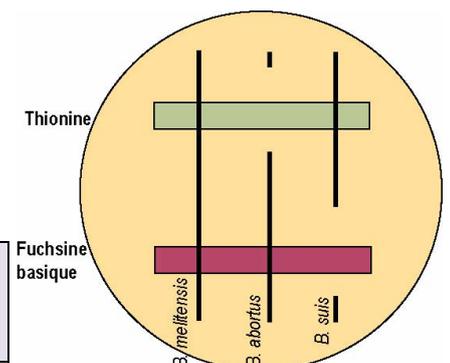
4. IDENTIFICATION

Les *Brucella* sont oxydase + et catalase +. Aérobies strictes.

On peut utiliser les Épreuves de Huddelson:

(exigence en dioxyde de carbone, production d'H₂S, résistance à la thionine, résistance à la fuchsine)

Espèces	Exigence en CO ₂	Production d'H ₂ S	Résistance à Thionine	Résistance à Fuchsine basique
<i>B. melitensis</i>	-	- ou traces	+	+
<i>B. abortus</i>	+	+ en 2 jours et plus	-	+
<i>B. suis</i>	-	++ en 4 jours	+	-



Les résistances sont appréciées par culture de la bactérie autour des disques préimprégnés correspondants ou de bandelettes.

Le diagnostic peut être indirect par la mise en évidence de **l'immunité** :

- sérodiagnostic de Wright, agglutination en tubes qui doit être complété par la détection d'éventuels anticorps bloquants
- épreuve de l'antigène tamponné ou EAT, agglutination sur lame avec un Ag coloré.
- immunofluorescence indirecte
- immunoenzymologie (en développement)

5. TRAITEMENT ET ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme est fort délicat à réaliser vu la vitesse de la culture.

On doit utiliser des antibiotiques à **diffusion intracellulaire**.

On utilise donc tétracyclines (très rares résistances) et rifampicine, souvent en association avec la streptomycine, le chloramphénicol, les sulfamides. Le traitement habituel utilise les tétracyclines, de bonne pénétration cellulaire, et streptomycine. Chez le jeune enfant ou la femme enceinte, les tétracyclines sont remplacées par rifampicine.

Dans la brucellose chronique c'est par antigénothérapie (désensibilisation) que l'on traite.

6. PROPHYLAXIE

Au niveau du réservoir animal : **la détection des animaux malades** (tests sérologiques, ring test dans les laits) permet leur élimination. La **vaccination** (vaccins vivants ou tués) est efficace mais rend difficile la détection des animaux malades : elle est donc actuellement interdite. La forte diminution des cas de brucelloses animales montre l'efficacité du dispositif qui pourrait conduire à l'éradication de la maladie.

Chez l'homme, la **contamination alimentaire** sera limitée en particulier par la **pasteurisation** et la **contamination directe par le port de gants**.

Tout laborantin prendra garde devant le contact avec un produit pathologique, en particulier les flacons d'hémoculture : il n'y a toutefois pas de raison de prendre plus peur que pour d'autres agents. Les précautions habituelles doivent suffire.

Les **vaccins** tués étaient utilisables chez l'homme (fraction phénol insoluble de culture de *Brucella abortus* pour le vaccin Mérieux) mais ne sont plus fabriqués depuis 1992.

COMPLÉMENTS

Un site très intéressant (incluant des liens)

<http://www.microbes-edu.org/etudiant/brucella.html>

Paru dans Le Monde du (8 avril 2000) : BRUCELLOSE

Quatre troupeaux de moutons (1871 bêtes au total) sont en cours d'abattage en raison d'une épizootie de brucellose. Les troupeaux contaminés ont passé l'été 1999 ensemble sur les alpages de Savoie. La maladie a été décelée, à l'occasion d'un dépistage annuel obligatoire auquel sont soumis les animaux. La direction des services vétérinaires de la Drôme a décidé de faire abattre la totalité des animaux des élevages où la brucellose a été détectée, même ceux qui n'étaient pas contaminés. La brucellose est transmissible à l'homme par contact direct avec un animal contaminé. -(Corresp.)

BRUCELLOSE animale en France (bulletin de l'afssa n°4/2002)

Nombre de foyers (France)

	2000	2001
Brucellose bovine	40	25
Brucellose ovine	25	14
Brucellose caprine	4	1
Brucellose porcine	7	3