

Brucella

La brucellose est une zoonose touchant diverses espèces animales (mammifères domestiques, le plus souvent).

Certaines professions étant particulièrement exposées tels agriculteurs, éleveurs, vétérinaires et personnel d'abattoir, il s'agit d'une maladie professionnelle à déclaration obligatoire. Cette zoonose (anthropozoonose) a des répercussions importantes aussi bien pour la santé publique que pour l'économie de la plupart des pays en voie de développement. La maladie animale a été maîtrisée par une prophylaxie sanitaire et quelquefois médicale (vaccin). Enfin c'est un agent potentiel du bioterrorisme (agent biologique de la classe 3).

1-Habitat

Les Brucella sont des pathogènes intracellulaires facultatifs, parasites du système réticulo-histiocytaire. Elles sont pathogènes pour de très nombreuses espèces de mammifères, domestiques ou sauvages telles bovins, ovins, caprins, porcins, carnivores, lagomorphes, rongeurs mais aussi chevreuil, caribou, renne, bison et même mammifères marins tels dauphin, otarie

La brucellose est essentiellement une maladie animale (zoonose) avec l'existence d'hôtes ou de réservoirs préférentiels.

B.melitensis chèvres mouton

B.abortus bovin

B.suis porc, lièvre

B.canis chiens, quelques canidés sauvages

2-Taxonomie- Classification

Les bactéries du genre Brucella appartiennent au groupe alpha des Proteobacteria (sous-groupe a2) et maintenant à la famille des Rhizobiaceae. Les espèces bactériennes, phylogéniquement les plus proches, sont les Bartonella, autres bactéries responsables de zoonoses; des bactéries de l'environnement, d'autres rarement isolées chez l'homme comme Ochrobacterium anthropi, Afipia felis... : et enfin des bactéries pathogènes ou symbiotes de plantes comme Rhizobium. Agrobacterium.

Ces bactéries appartiennent aux alpha-Proteobacteria, à l'ordre des Rhizobiales et enfin à la famille des Rhizobiaceae avec les genres Brucella, Mycoplasma, Ochrobacterium

Le genre a été divisé en au moins, six espèces, séparées en biovars ou biotypes alors qu'au plan génomique, une seule espèce existe: B. melitensis. En effet, les études fondées sur l'hybridation ADN/ADN ou sur la séquence du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S ont montré que le genre Brucella est mono spécifique (B. melitensis), les anciennes espèces étant ramenées au rang de sous-espèces ou nomenclatures. De nouvelles espèces "marines" ont été proposées afin de différencier les souches issues de mammifères marins: B. maris regroupe l'ensemble des souches de mammifères

marins, puis *B. cetaceae* isolée de cétacés (baleines, cachalots, dauphins, marsouins) et enfin *B. pinnipidae* isolée de pinnipèdes (phoques, otaries, morses).

3-Principaux caractères bactériologiques

Ceux sont de petits coccobacilles à gram négatif, mesurant 0,6 à 1,5 µm de long et de 0,5 à 0,7 µm de diamètre, non capsulés, non sporulés. À l'état frais, ils sont animés de forts mouvements browniens pouvant conduire à détecter une fausse mobilité. Une caractéristique tinctoriale liée à l'acido-résistance de la paroi peut être révélée par certaines techniques colorimétriques (Stamp, par exemple) permettant un diagnostic bactérioscopique en médecine vétérinaire.

Leur culture exige l'usage de milieux enrichis tels gélose Columbia au sang frais ou chocolat, la gélose trypticase soja additionnée 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 jusqu'à 2 à 3 semaines. Les colonies sont translucides, rondes à bords réguliers. La culture en milieu liquide présente un trouble léger.

(-) La plupart de 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*).

Ces bactéries sont sensibles à la chaleur en milieu liquide, d'où l'efficacité de la pasteurisation du lait ou d'une ébullition de courte durée.

4-Caractères antigéniques

Le lipopolysaccharide (LPS), antigène le plus immunogène est caractérisé par une variation de phase avec les phénotypes suivants 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. Les chaînes latérales polysaccharidiques (antigène « O ») du S-LPS sont le support principal des réactions croisées entre *Brucella* spp., *Yersinia enterocolitica* serovar O : 9, *Francisella tularensis*, ou encore *Vibrio cholerae*. L'immunogénicité des protéines membranaires, périplasmiques ou cytoplasmiques est inférieure à celle du LPS.

L'identification ultérieure en espèce et biovar fait appel aux caractères suivants : exigence ou non en gaz carbonique (CO₂), production d'H₂S, la croissance ou non sur des milieux gélosés contenant des concentrations variables de colorants inhibiteurs tels thionine, fuschine basique ... sensibilité variable aux bactériophages.

5-Pouvoir pathogène naturel

Brucella: Espèces et biovars, caractéristiques épidémiologiques, hôte animal préférentiel (selon M.Maurin).

Espèce	Biovars	Repartition	Hôte animal habituel
<i>H. abortus</i>	1 - 6, 9	Ubiquitaire	Bovins, ongles sauvages
<i>B. melitensis</i>	1 - 3	Bassin méditerranéen, Moyen Orient	Ovins, caprins, ongles sauvages
<i>B. suis</i>	1 et 3	Amerique, Asie, Oceanic	Suides
<i>B. suis</i>	2	Europe centrale et occidentale	Suides, lièvres
<i>B. suis</i>	4	Amerique du Nord, Russie	Rennes
<i>B. suis</i>	5	Russie	Rongeurs sauvages
<i>B. canis</i>		Ubiquitaire (fréquence élevée en Amérique du sud)	Chiens
<i>B. ovis</i>		Bassin méditerranéen	Ovins
<i>B. neolomae</i>		Utah (Etats-Unis)	Rongeurs du désert
<i>B. cetaceae</i>		?	Cetacés (dauphins)
<i>B. pinnipediae</i>		7	Pinnipèdes (phoques, otaries)

La brucellose animale, malgré de rares cas d'arthrite ou d'hygroma, est essentiellement une maladie de la reproduction se caractérisant:

-chez le mâle: épидидymites, orchites, stérilité

-chez la femelle: atteinte de l'utérus (métrite), infection du fœtus, mort puis avortement.

L'infection mammaire (sub-clinique) est classique.

En-dehors de la gestation, l'infection peut être asymptomatique malgré une éventuelle élimination de Brucella durant plusieurs mois par différentes voies: mammaire, vaginale, spermatique. La brucellose animale sera donc, souvent chronique et bien tolérée. L'avortement, la baisse de fertilité, voire l'infertilité ainsi que le risque sanitaire des mammifères domestiques rend compte de l'impact économique de cette zoonose non négligeable.

La transmission chez l'homme se fait par contact direct, par ingestion et enfin par inhalation. Chez ce dernier, la brucellose (lorsqu'elle n'évolue pas sous une forme inapparente) s'extériorise par des symptômes très variés dont les principaux sont la fièvre, les sueurs et les douleurs articulaires.

6-Epidémiologie

Les brucelloses sont essentiellement des maladies animales de répartition mondiale dont la prévalence peut varier considérablement d'un pays à l'autre et d'un réservoir animal à l'autre.

7-Physio-pathogénie

Les Brucella pénètrent l'organisme par plusieurs voies : cutanée, oculaire, digestive ou respiratoire. La voie de contamination principale est vraisemblablement digestive. Il y a pénétration à travers une muqueuse (conjonctive, pharyngée, buccale, nasale, respiratoire). puis les bactéries gagnent par voie lymphatique, le premier relais ganglionnaire. Elles se multiplient et disséminent dans tout l'organisme par voie lymphatique et sanguine (bactériémie continue à la phase d'invasion). Ainsi après une période d'incubation variable, la brucellose se caractérise dans sa phase aiguë par une septicémie. Ces germes sont phagocytés plus ou moins rapidement par les macrophages ou les monocytes, puis détruits avec libération d'antigène et d'endotoxine. Ce sont des parasites intracellulaires facultatifs du système réticulo- histocytaire (splénomégalie, hépatomégalie).

Il y a réponse immunitaire par production d'anticorps permettant le sérodiagnostic de la maladie. Leur rôle protecteur semble réel mais secondaire par rapport à l'immunité cellulaire.

L'immunité à médiation cellulaire est essentielle pour la défense de l'organisme contre l'infection. Les lymphocytes T renforcent l'activité bactéricide des macrophages qui détruisent les Brucella au sein d'un granulome spécifique. Leur persistance intramacrophagique entretient un état d'hypersensibilité retardée participant aux effets de la brucellose tertiaire ou chronique.

8 Diagnostic chez l'animal

Si le diagnostic sérologique est le plus fréquent, seul le diagnostic bactériologique par culture et isolement de la souche apportera la certitude.

Le diagnostic de genre Brucella est relativement simple. On peut y ajouter les caractères d'agglutination (identification antigénique) et de sensibilité aux antibiotiques dont les tétracyclines (TET) et la rifampicine (RIF).

8.1-Diagnostic direct

La méthode la plus fiable de diagnostic de la brucellose animale demeure l'isolement de l'agent en cause. L'examen microscopique de frottis d'écouvillons vaginaux ou de placentas ou fœtus après coloration de Stamp constitue une méthode rapide de dépistage. Néanmoins, d'autres micro-organismes tels que Chlamydia abortus (agent de la Chlamydiose) ou Coxiella burnetii (agent de la fièvre Q) peuvent être confondus avec Brucella par cette méthode qui s'avère également peu sensible.

La recherche de Brucella par culture est donc très fortement commandée. Les prélèvements de choix sur l'animal vivant sont les sécrétions génitales (écouvillonnage vaginal en zone péri-cervicale) et le lait, l'excrétion mammaire et génitale étant généralement prolongées dans ces espèces. L'avorton (contenu stomacal, poumon et rate) et les annexes placentaires constituent également un prélèvement potentiellement intéressant et sont généralement riches en Brucella. Ils sont néanmoins souvent contaminés par la flore de l'environnement et surtout dangereux tant pour le préleveur que pour le personnel chargé du transport et celui du laboratoire de diagnostic. Sur la carcasse, outre les testicules en cas d'orchite chez le mâle, la rate et les ganglions lymphatiques (retro-mammaire, parotidien, mandibulaire et retro-pharyngien voire les ganglions iliaques) représentent les prélèvements les plus intéressants.

Au laboratoire, les recherches s'effectuent sur milieu sélectif La sensibilité de la bactériologie reste néanmoins limitée, et les prélèvements et ensemencements doivent parfois être multipliés pour mettre en évidence la bactérie. Ceci est particulièrement vrai chez, les animaux préalablement vaccinés. La méthode PCR développée depuis une dizaine d'années reste encore peu sensible et son intérêt réside surtout dans sa capacité de détection de bactéries tuées ou dans des prélèvements très contaminés par la flore annexée. Elle est actuellement considérée comme un bon complément de la bactériologie classique mais ne peut aucunement la remplacer.

8.2-Dépistage - Diagnostic indirect Epreuves sérologiques

Le LPS-S constitue l'antigène majeur des *Brucella* en phase lisse et la majorité des anticorps produits chez l'hôte infecté sont spécifiques. L'épreuve à l'antigène tamponné (EAT ou Rose Bengale) et celle de Fixation du complément (FC) sont de longue date celles les plus employées pour le dépistage de la brucellose animale.

L'EAT est une épreuve très sensible, détectant précocement l'infection mais qui présente quelques défauts de spécificité (faux positifs en cheptel indemne). Ces propriétés en font une excellente méthode de surveillance compte tenu de sa capacité à la détection des cheptels infectés.

La FC est quant à elle plus spécifique (moins de faux positifs), plus tardive et, d'une façon générale, légèrement moins sensible que l'EAT (plus de faux négatifs en cheptel infecté).

L'utilisation conjointe des deux épreuves permet donc d'accroître la sensibilité du dépistage et d'assainir plus efficacement les cheptels infectés, si l'abattage concerne l'ensemble des animaux positifs à l'une au moins des deux épreuves.

Cependant, la très faible prévalence de l'infection s'accompagne obligatoirement d'une proportion importante de résultats faussement positifs. Du fait de leurs spécificités respectives, ce phénomène concerne davantage l'EAT que la FC. Ces résultats faux positifs sont aujourd'hui fréquemment liés à des infections par des micro-organismes croisant au plan antigénique avec les *Brucella*, *Yersinia enterocolitica* O: 9 surtout. Ces réactions sont généralement fugaces et concernent un nombre souvent très réduit d'animaux dans le cheptel.

L'ELISA indirect est très sensible, il semble moins spécifique que les deux précédentes épreuves. Chez les bovins, le Ring-test et PEL-ISA sont également utilisables sur le lait.

Epreuves d'immunité cellulaire

- L'épreuve cutanée allergique à la brucelline, validée chez les bovins, a été peu évaluée, chez les ovins et les caprins. Le brucellergène est actuellement le seul produit commercial dépourvu de LPS-S et donc utilisable sans risque d'induction d'anticorps ou de réaction inflammatoire pouvant interférer avec le diagnostic. Cette épreuve est très sensible et très spécifique, mais une vaccination préalable, y compris par voie conjonctivale, est susceptible d'induire des réactions positives pendant longtemps chez certains animaux.

9-Sensibilité aux antibiotiques - Traitement

Les Brucella sont sensibles in vitro à de nombreux antibiotiques dont les β -lactamines mais on aura à l'esprit qu'il s'agit de parasites intracellulaires facultatifs.

10-Prophylaxie

La réglementation de la brucellose des animaux domestiques met en œuvre des mesures sanitaires (dépistage et abattage des animaux infectés).

La prophylaxie de la maladie humaine passe nécessairement par celle de la maladie animale. Parmi les autres mesures, celles hygiéniques comme la protection par gants, lunettes de certaines professions exposées. Les autres mesures concernent le traitement thermique de certaines denrées alimentaires. Les vaccins proposés par le passé n'ont plus d'intérêt. Enfin l'administration prophylactique de tétracycline seule a été proposée lors d'exposition vaccinale accidentelle (éleveurs, vétérinaires).