

# Brucellose

La brucellose est une anthroponose due à trois espèces principales de *Brucella* : *B. abortus*, dominant chez les bovins, *B. melitensis*, pathogène pour les caprins et les ovins, et *B. suis*, pathogène essentiellement pour le porc. Ces coccobacilles à Gram négatif sont aérobies, asporulés et intracellulaires.

La brucellose est une maladie à déclaration obligatoire (décret n° 86-770 du 10 juin 1986) reconnue comme maladie professionnelle pour les individus au contact de ruminants infectés ainsi que pour le personnel de laboratoire.

La maladie animale se présente la plupart du temps comme une maladie de la reproduction (avortement spontané) qui pose un problème économique important. La chèvre reste souvent infectée chronique avec excrétion de *Brucella* dans le lait, alors que chez les ovins, la guérison survient généralement après l'avortement.

La transmission à l'homme se fait principalement par contact direct avec le bétail, en général par voie cutanéomuqueuse (peau saine ou lésée, conjonctive, tractus respiratoire) ou indirectement, dans 25 % des cas, par voie digestive : la contamination est alors liée aux habitudes alimentaires (lait cru, fromage frais, crème non pasteurisée).

La période d'invasion est en général muette, elle dure environ 2 semaines. Les germes introduits dans la peau ou par voie digestive migrent par voie lymphatique jusqu'au ganglion le plus proche, provoquant une adénopathie satellite. À partir du ganglion, il y a dissémination du germe par voie sanguine (phase septicémique) et localisation ultérieure dans le système réticuloendothélial (ganglions, rate, foie, moelle osseuse), constituant des foyers infectieux intracellulaires associés à une importante réaction inflammatoire lymphocytaire.

L'expression clinique majeure est la fièvre, constituée classiquement d'ondes fébriles durant 10 à 15 jours séparées par des périodes de quasi-apyrexie de 5 à 10 jours. Cet état fébrile est accompagné d'une asthénie, de sueurs nocturnes abondantes et de douleurs musculaires ou articulaires mobiles et fugaces. C'est la fièvre ondulante sudoroalgique. Cependant, les formes de brucellose aiguë asymptomatiques sont majoritaires, estimées à près de 90 %. L'endocardite brucellienne est une complication rare mais gravissime survenant sur un terrain débilité (alcoolisme, diabète, cardiopathie...).

Des formes focalisées peuvent succéder à une brucellose aiguë ou survenir plusieurs mois, voire plusieurs années

Tableau 3. Les différents profils sérologiques rencontrés : épreuves sérologiques

Phase	Hémoculture	SAW	EAT	FC	IFI	IDR à la mélitine
Initiale	+	+	-	-	-	-
Aiguë état extinction	+	++	+	+	+	+
	-	+/-	+/-	+/-	+	++
Subaiguë focalisée	+/-	+	+	+	+	++
Chronique	-	-	-	+/-	+	++

après une brucellose aiguë ignorée ou mal traitée. Les localisations ostéoarticulaires, principalement à type de spondylodiscite, sont les plus fréquentes (75 %), mais il existe également des localisations viscérales (hépatique, génitale et urinaire). Les neurobrucelloses sont des manifestations secondaires rares, conséquences d'une infestation méningée à la phase aiguë.

En l'absence de traitement antibiotique, la guérison sous l'influence des mécanismes immunitaires n'est souvent qu'apparente, car les bactéries vont persister dans les cellules réticulaires de l'organisme, créant ainsi un équilibre fragile souvent à l'origine de manifestations récidivantes : c'est la brucellose chronique afocale, dont la symptomatologie est dominée par l'asthénie physique et psychique.

Le traitement de la brucellose aiguë repose sur une biantibiothérapie doxycycline (200 mg/j) + rifampicine (600 à 900 mg/j) pendant 6 semaines ou d'une association fluoroquinolone + rifampicine, à l'efficacité comparable. Les formes focalisées justifient de ces mêmes associations administrées de 6 semaines à 3 mois en fonction de l'importance du foyer. En cas de localisation ostéoarticulaire, l'association doxycycline gentamicine (5 mg/kg/j en une injection, de 7 à 10 jours) a montré la meilleure efficacité. La brucellose chronique afocale ne retire aucun bénéfice d'une antibiothérapie.

La prévention de la maladie chez l'homme repose essentiellement sur la mise en place de mesures d'hygiène alimentaire, de mesures d'hygiène individuelle (port de gants, masque) pour les professions exposées et sur la vaccination des bovins, des ovins et des caprins. Il n'existe pas à ce jour de vaccin efficace et bien toléré chez l'homme.

Le diagnostic biologique est indispensable face à la faible spécificité de la clinique. Sur le plan hématologique, la numération montre une absence de leucocytose, voire une neutropénie et parfois une thrombopénie. La protéine C réactive (CRP) est augmentée et une élévation modérée des transaminases peut être notée. Pour le diagnostic biologique spécifique, le choix de la technique à privilégier, directe ou indirecte, est fonction de la phase de la maladie (tableau 3).

## Diagnostic direct

### — Culture

L'isolement des *Brucella* en culture est la technique de référence pour établir un diagnostic certain de brucellose. Toute suspicion doit être signalée au laboratoire réalisant la mise en culture des prélèvements, en raison du risque élevé de contamination du personnel technique. Les cultures doivent être réalisées en laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (P3).

La bactérie est le plus souvent isolée à partir du sang par hémoculture. Il est indispensable que le clinicien précise l'orientation clinique, afin que les flacons insérés dans des systèmes automatisés puissent être incubés plus longtemps.

L'hémoculture est à peu près constamment positive dans la phase aiguë, et encore fréquemment dans la phase subaiguë focalisée. La recherche des germes n'est que très exceptionnellement positive dans les brucelloses chroniques.

La recherche des brucelles peut se pratiquer à partir d'autres prélèvements (ganglion, moelle osseuse, liquide céphalo-rachidien, pus de foyer...). Ces prélèvements serontensemencés sur gélose au sang et gélose chocolat et incubés à 37 °C sous 5 à 10 % de CO<sub>2</sub>. La culture est lente (> 48 heures). Les colonies lisses, translucides, non hémolytiques, à bords réguliers, de coccobacilles à Gram négatif sont aérobies strictes, catalase +, oxydase + et possèdent une uréase et une nitrateréductase.

### — Diagnostic moléculaire

La PCR est une technique sensible et spécifique réalisée à partir du sang ou du sérum à la phase aiguë bactériémique et à partir de biopsies tissulaires ou de suppurations au cours des formes focalisées de brucellose. Les principales cibles utilisées sont le gène *bcsf31*, codant pour une protéine de 31 kDa, et la séquence d'insertion IS711, dont plusieurs copies sont présentes dans le génome. La plupart des techniques sont spécifiques de genre et ne permettent pas de déterminer l'espèce en cause. Leur intérêt réside principalement dans le diagnostic aigu en cas d'antibiothérapie empirique négativant la culture et en cas de formes focalisées de brucellose, la sensibilité de la PCR se révélant supérieure à celle de la culture.

## Diagnostic indirect

Les réactions sérologiques utilisées dans le diagnostic de la brucellose sont nombreuses, mais il existe une parenté antigénique avec d'autres germes (*Francisella*

*tularensis*, *Yersinia enterocolitica* O9, *Vibrio cholerae*) à l'origine de fausses réactions positives. Les IgM apparaissent les premières et sont décelées à partir du 10<sup>e</sup> jour après le début clinique de la maladie. Les IgG sont décelables ensuite, et les titres des deux classes (IgM et IgG) s'élèvent ensemble pendant la phase aiguë de la maladie. Le taux d'IgG devient alors prépondérant, surtout dans les phases tardives de l'infection aiguë.

Dans la phase chronique, les IgM disparaissent tandis que les IgG persistent. Il est important toutefois de préciser qu'on ne peut pas différencier par la nature des anticorps la phase d'évolution de la maladie, car la cinétique des différentes classes d'anticorps n'est pas absolue et varie d'un individu à l'autre (tableau 4).

### — Séroagglutination de Wright (SAW)

C'est la méthode de référence de l'OMS. Elle se positive à partir du 10<sup>e</sup> ou 12<sup>e</sup> jour de la maladie et se négative rapidement, car elle détecte essentiellement les IgM. Le titre des anticorps décroît en 4 à 8 mois. Le test est parfois négatif dans la brucellose subaiguë, et presque toujours dans les brucelloses chroniques et chez les anciens brucellisés. De ce fait, il n'est utilisable ni pour les enquêtes épidémiologiques, ni pour les diagnostics de brucellose chronique.

Un titre supérieur ou égal à 1/80 (soit 120 UI/ml) est significatif. Cependant, des titres faibles (1/20 à 1/40) peuvent correspondre à un début de brucellose ou à une trace sérologique, et justifient un second prélèvement à 15 jours ou 3 semaines de distance.

L'interprétation du SAW doit tenir compte du risque de faux positifs et de faux négatifs. Les faux négatifs sont observés en présence d'anticorps bloquants ou par excès d'anticorps responsables d'un phénomène de zone. Devant un sérodiagnostic négatif, la recherche d'anticorps bloquants doit être réalisée en systématique. Les anticorps bloquants sont des IgG ou des IgA qui bloquent les sites antigéniques des bactéries utilisées pour le test, responsables d'une absence d'agglutination. Leur mise en évidence repose sur l'adjonction d'un sérum positif dans les tubes négatifs. L'absence d'agglutination, après incubation, traduit la présence d'anticorps bloquants dans le sérum testé. Afin d'éviter les faux négatifs liés à un phénomène de zone, une séroagglutination avec toutes les dilutions de sérums sera réalisée d'emblée.

Des réactions croisées dues aux parentés antigéniques entre *Brucella* et *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* sérotype O : 9 et *Vibrio cholerae* sont à l'origine de faux positifs. Cela explique la nécessité de pratiquer

Tableau 4

Réactions utilisées	Classe d'anticorps mise en évidence			Sensibilité	Spécificité	Utilisation	Remarques
	IgM	IgG	IgA				
Séroagglutination de Wright (SAW)	+++	+	+	60 %	90 %	Formes aiguës et dépistage	Se négative rapidement * faux positifs (réactions croisées) * faux négatifs → recherche d'Ac bloquants
Épreuve à l'antigène tamponné au rose Bengale (EAT)	+	+++		80 %	90 %	Formes aiguës et dépistage	À faire suivre d'un SAW pour quantification si résultat positif
Fixation du complément (FC)	+	+++		60 %	95 %	Stade tardif et formes locales	Positif plus tardivement mais plus longtemps que les Ac agglutinants (SAW et EAT)
Immunofluorescence indirecte (IFI)	Toutes selon l'antiglobuline utilisée			90 %	95-100 %	Tout au long de l'évolution	Se positive tôt et le reste au moins 18 mois
Intradermoréaction à la mélitine (IDR)	Exploration de l'immunité cellulaire					Formes chroniques	* Se positive 4 semaines après le début des signes cliniques * Distinction parfois difficile entre brucellose chronique et brucellose guérie

une sérologie *Yersinia* devant tout sérodiagnostic de Wright positif.

— *Réaction à l'antigène au rose Bengale, ou antigène tamponné*

C'est une réaction d'agglutination rapide sur lame, sensible et spécifique. Elle est réalisée au moyen d'une suspension bactérienne colorée au rose Bengale en milieu acide tamponné. Elle permet le dépistage de pratiquement tous les cas de brucellose. Bien qu'elle ne mette en évidence que les IgG, elle ne se positive guère plus tardivement que le sérodiagnostic de Wright. Elle est donc très utile dans la phase aiguë. De plus, elle reste positive très longtemps et demeure ainsi souvent utilisable dans la phase chronique. Ce n'est pas une réaction quantitative et, en cas de positivité, les sérums doivent être titrés par SAW. Cette réaction, de par sa simplicité, sa rapidité, sa sensibilité et sa spécificité, est devenue la technique de base du sérodiagnostic de brucellose, utilisée aussi bien pour le diagnostic et la surveillance de la brucellose-maladie que pour le dépistage et les enquêtes épidémiologiques.

— *Réaction de fixation du complément*

Elle détecte des immunoglobulines de type IgG. Elle se positive plus tardivement que la séroagglutination de Wright mais persiste plus longtemps et est donc utile dans le diagnostic des localisations viscérales focalisées. Le titre est maximal au 3<sup>e</sup> mois et se négative 12 mois après la guérison clinique.

— *Réaction d'immunofluorescence indirecte*


Elle permet la détection et le titrage des IgG et des IgM. C'est une réaction très sensible et plus spécifique que les techniques d'agglutination. Les anticorps ainsi mis en évidence apparaissent à peine quelques jours plus tard que les agglutinines, mais persistent plus longtemps, au-delà de 18 mois. Ces anticorps sont le plus souvent présents dans les brucelloses chroniques.

— *Intradermoréaction à la mélitine*

Elle met en évidence l'hypersensibilité retardée d'un individu à l'antigène brucellien. La lecture s'effectue 24 à 48 heures après l'injection intradermique. Au cours de la maladie, elle se positive environ 4 semaines après le début des signes cliniques et demeure positive de nombreuses années. Son intérêt se situe essentiellement dans le diagnostic de la brucellose chronique, mais il sera souvent difficile de distinguer une vraie brucellose chronique d'une brucellose guérie.

Ce test n'est cependant plus réalisable en raison de l'arrêt de la fabrication de l'antigène spécifique.

 *Tularémie, Yersinioses*

 Janbon F.  
Brucellose.  
EMC - Maladies Infectieuses 2000 ; 8-038-A-10, 11 p.  
Maurin M.  
La Brucellose à l'aube du 21<sup>e</sup> siècle.  
Méd Mal Infect 2005 ; 35 : 6-16.