



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



Pathologie Biologie xxx (2008) xxx–xxx

PATHOLOGIE
BIOLOGIE

<http://france.elsevier.com/direct/PATBIO/>

Article original

Aspects cliniques, microbiologiques et thérapeutiques de la brucellose : étude de 45 cas

Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: 45 patients study

M. Zribi ^{a,*}, L. Ammari ^b, A. Masmoudi ^a, H. Tiouiri ^b, C. Fendri ^a

^a Laboratoire de microbiologie, hôpital la Rabta, rue Jabbari, 1007 Tunis, Tunisie

^b Service des maladies infectieuses, hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Reçu le 19 janvier 2008 ; accepté le 11 février 2008

Résumé

Depuis octobre 2005, une recrudescence des cas de brucellose a été notée dans le Grand Tunis, le Nord et le Centre du pays. Le but de notre travail a été de recenser les cas de brucelloses diagnostiqués au laboratoire de microbiologie de l'hôpital la Rabta entre janvier 2005 et décembre 2006 et d'étudier leur profil clinique, bactériologique et épidémiologique. La culture des hémocultures, LCR et biopsies articulaires a été automatisée (BacT Alert). Trois réactions sérologiques ont été réalisées : l'épreuve à l'antigène tamponné, le sérodiagnostic de Wright et l'immunofluorescence indirecte. L'antibiogramme a été réalisé sur gélose au sang incubée 48 heures sous CO₂ pour 13 souches. Un séquençage a été réalisé pour quatre souches. Quarante-cinq cas de brucellose ont été étudiés : 31 brucelloses aiguës et 14 brucelloses focalisées. L'origine de la contamination était essentiellement digestive (28 cas, soit 62,2 %). Les symptômes cliniques étaient la fièvre (93 %), du sueurs (82 %), la myalgie (78 %) et la splénomégalie (51 %). Sur le plan biologique, un syndrome inflammatoire, une leucopénie et une anémie ont été notés dans respectivement 80, 49 et 37 %. Les hémocultures étaient positives dans 39 % des cas. Les quatre souches séquencées, ont été identifiées ainsi *Brucella melitensis* biovar *abortus*. Six souches étaient résistantes à l'association triméthoprime–sulfométhoxazole (54 %). Dans 93 % des cas, l'antibiothérapie a comporté l'association rifampicine–doxycycline. Un malade est décédé. Aucune rechute n'a été rapportée.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the clinical, laboratory findings and therapeutic features of patients with brucellosis. The diagnosis was made by clinical findings, automated blood culture, serology (Rose Bengal plate agglutination test, standard tube agglutination (Wright) and immunofluorescence). The susceptibility of 13 strains was tested in vitro. The sequence base was determined for four strains. Forty-five cases were collected (31 acute and 14 sub-acute). Contamination was digestive in 62%. Symptoms of patients were fever (93%), sweating (82%), arthralgia (78%) and splenomegaly (51%). Elevated erythrocyte sedimentation rate was determined in 80%, leukopenia in 49% and anaemia in 37% of cases. Blood cultures were positives in 39% of cases. The four sequenced strains were identified as *Brucella melitensis* biovar *abortus*. Six strains were resistant to sulfamethoxazole–trimethoprim (54%). In 93% of cases, the treatment was associated rifampicin and doxycycline. One patient was died. No relapse was reported.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Brucellose ; Diagnostic ; Clinique ; Epidémiologie ; Traitement

Keywords: Brucellosis; Diagnosis; Clinical features; Epidemiology; Treatment

* Auteur correspondant.

Adresses e-mail: m.zribi@tunet.tn (M. Zribi), lamia_ammari@yahoo.fr (L. Ammari), afefmasmoudi@planet.tn (A. Masmoudi), fendrichedlia@planet.tn (C. Fendri).

1. Introduction

La brucellose ou la fièvre de Malte est une anthrozoonose décrite d'abord chez les animaux domestiques puis chez l'homme. Sa pathologie dépend largement du réservoir animal [1,2]. Les espèces les plus incriminées en clinique sont *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *Brucella suis* [3]. La brucellose humaine est l'anthrozoonose, la plus répandue dans le monde (56 pays touchés). Elle demeure endémique dans certains pays du bassin méditerranéen, au Moyen Orient, en Asie de l'Ouest et dans certaines régions d'Afrique et d'Amérique Latine [4]. Pendant les 20 dernières années, une augmentation du nombre de cas a été notée dans la population de la région méditerranéenne et les pays de l'Est [3]. La brucellose peut évoluer selon trois modes : aigu, subaiguë et chronique. La diversité clinique et les complications engendrées par la brucellose rendent son diagnostic clinique difficile. La confirmation microbiologique est indispensable et le diagnostic est le plus souvent sérologique [5].

En Tunisie, la surveillance de la brucellose, maladie à déclaration obligatoire, est organisée par la direction des soins de santé de base (DSSB) sous la tutelle du ministère de la Santé publique. Depuis l'instauration de la vaccination des petits ruminants (ovins et bovins) par l'état, la brucellose est devenue rare en Tunisie avec cependant des foyers localisés au Sud-tunisien. Depuis octobre 2005, une recrudescence des cas de brucellose a été notée dans le Grand Tunis, le Nord et le Centre du pays. Le but de notre travail a été de recenser les cas de brucelloses diagnostiqués au laboratoire de microbiologie de l'hôpital la Rabta entre janvier 2005 et décembre 2006 et d'étudier leur profil clinique, bactériologique et épidémiologique.

2. Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective de janvier 2005 à décembre 2006, effectuée dans le laboratoire de microbiologie de l'hôpital la Rabta de Tunis. Les cas positifs de brucellose à l'hémoculture et/ou la sérologie et ayant une fiche d'étude incluant les renseignements cliniques ont été retenus. Ces fiches comprenaient : l'âge, le sexe, le service, l'origine, la source de contamination, les signes fonctionnels, les signes physiques, la bactériologie, le traitement et l'évolution.

La culture des hémocultures, LCR et biopsies articulaires a été automatisée (BacT alert) incubée une semaine à 37 °C. La subculture a été réalisée sur gélose ordinaire et gélose au sang et incubées 48 heures sous CO₂. L'identification des souches de brucellose a été basée sur la coloration de Gram, le métabolisme respiratoire, les réactions à la catalase, à l'oxydase et à l'uréase (trois heures). L'antibiogramme a été réalisé sur gélose au sang incubée 48 heures sous CO₂. Les antibiotiques testés étaient l'amoxicilline, l'amoxicilline-acide clavulanique, la streptomycine, la kanamycine, la tobramycine, la gentamycine, l'amikacine, le chloramphénicol, la tétracycline, l'ofloxacine, la ciprofloxacine, la lévofloxacine, la rifampicine et le triméthoprim-sulfométhoxazole.

Le séquençage a été réalisé pour quatre souches. L'ADN a été extrait par le Kit QIAamp (QIAGEN, Hilden, Allemagne), une PCR a été réalisée, le produit de PCR a été séquencé par un séquenceur (ABI Prism 3100 Genetic Analyser ; Applied Biosystems). La séquence obtenue a été alignée et comparée avec une séquence d'ADN ribosomal 16S du GenBank.

Pour la sérologie, trois réactions ont été réalisées : l'épreuve à l'antigène tamponné ou Rose Bengale : Bio-RAD, France, le sérodiagnostic de Wright : Bio-RAD, France (seuil de positivité > 1/80) et l'immunofluorescence indirecte : Bio-RAD, France (seuil de positivité > 1/160).

3. Résultats

3.1. Caractéristiques épidémiologiques

Quarante-cinq cas de brucellose ont été étudiés. La sex-ratio homme/femme était de 2,7. L'âge moyen des patients était de 44,6 ans avec des extrêmes allant de 15 à 80 ans. L'origine rurale a été notée dans 31 cas (69 %) et urbaine dans 14 cas (31 %). Les patients étaient adressés dans 80 % des cas par les services de maladies infectieuses du CHU la Rabta (Tunis) (71,1 %) et de Menzel Bourguiba (8,9 %) (Tableau 1).

L'origine de la contamination était essentiellement digestive par ingestion de lait ou de produits laitiers non pasteurisés dans 28 cas (62,2 %). La contamination professionnelle a été notée dans 17 (37,8 %) cas, dont 15 éleveurs de bétail avec notion d'avortement dans le cheptel. Deux de brucellose professionnelle ont été notées (personnel du laboratoire). La recrudescence de la brucellose dans le Grand Tunis malgré la surveillance à l'échelle nationale et la vaccination des petits ruminants serait dû aux mouvements du cheptel, la transhumance et à l'introduction de cas infectés à partir de foyers tunisiens connus limités à certaines régions du Sud, ou bien à partir d'autres pays.

3.2. Manifestations cliniques

Parmi les patients étudiés cinq étaient diabétiques, deux hypertendus, deux ont présenté un AVC, un patient avait un psoriasis et un autre était cirrhotique.

Les 45 cas de brucelloses se répartissent comme suit (Tableau 2) :

Le début de la symptomatologie était progressif dans 42 cas (93,3 %) et brutal dans trois cas. Le délai diagnostic moyen a été de 40 jours avec des extrêmes allant de sept jours à six mois. Les délais les plus longs ont été associés aux formes ostéoarticulaires.

Tableau 1
Origine des patients

Service d'origine	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Maladies infectieuses	32	71,1
Rhumatologie	6	13,3
Menzel Bourguiba	6	8,9
Médecine interne	3	6,7

Tableau 2
Répartition des différentes formes cliniques de la brucellose

Formes cliniques	Nombre de patients (%)
Brucellose aigüe	31 (69)
Brucellose focalisée	14 (31)
Ostéoarticulaire	11 (79)
Neurobrucellose	2 (14)
Endocardite	1 (7)
Brucellose chronique	0

La symptomatologie clinique était polymorphe, la fièvre sudoroalgique n'a été observée que dans 60 % des cas et dans 40 % la fièvre était en plateau. Une altération de l'état général a été notée dans 14 cas (31,1 %). Soixante-dix-huit pour cent des patients souffraient de myalgies, 18 % de sciatalgies et de douleurs rachidiennes. Les troubles sphinctériens n'ont pas été notés (Tableau 3).

La splénomégalie, signe fréquent de la brucellose a été retrouvée dans 51 % des cas et l'hépatomégalie n'a été retrouvée que dans 15 % des cas. Les douleurs à la palpation du rachis ont été retrouvées dans 13 % des cas. Un cas d'orchite a été noté et les deux cas de neurobrucellose ont montré un déficit neurologique et un syndrome méningé (Tableau 3).

Au cours des brucelloses focalisées, l'atteinte ostéoarticulaire a été signalée dans 11 cas (79 %) qui se répartissaient comme suit (Tableau 4) :

Les manifestations neurologiques étaient des méningites à liquide clair (deux cas). Une localisation endocardique a été notée.

3.3. Données biologiques

Sur le plan biologique, l'hémogramme a révélé une leucopénie dans 49 % des cas, associée à une anémie dans 37 % des cas. La thrombopénie a été retrouvée dans sept cas (16 %) et le syndrome inflammatoire a été noté dans 36 cas (80 %). Au cours de la neurobrucellose, la méningite était à liquide clair, lymphocytaire avec normoglucochorachie et hyperalbuminorachie.

Tableau 3
Les signes cliniques observés au cours de la brucellose

Signe clinique	Nombre	Pourcentage (%)
Fièvre	42	93
Sueurs	37	82
Myalgies	35	78
AEG	14	31
Sciatalgies	8	18
Troubles neurologiques	3	7
Douleurs rachidiennes	8	18
Hépatomégalie	7	15
Splénomégalie	23	51
Orchite	1	2
Douleurs à la palpation du rachis	6	13
Déficit neurologique	2	4
Syndrome méningé	2	4

Tableau 4
Les différents types d'atteintes ostéoarticulaires

Localisation ostéoarticulaire	Nombre de patients
Spondylodiscite	8
Lombaire	7
Multifocale	1
Abcès du psoas	2
Épidurite	2
Sacroiléite	2
Coxite	1

Tableau 5
Sensibilité aux antibiotiques

	Nombre de souches sensibles	Pourcentage (%)
Kanamycine	13	100
Rifampicine	13	100
Sulfométhoxazole–triméthoprim	7	54
Ciprofloxacine	13	100
Tétracycline	13	100

3.4. Résultats bactériologiques

La réaction au Rose Bengale a été positive dans tous les cas. L'immunofluorescence a été négative dans cinq cas (11 %) et le Wright dans deux cas (4 %). Les hémocultures n'ont pas été faites dans quatre cas et seize hémocultures étaient positives (39 %). L'antibiogramme a été réalisé pour 13 souches (trois souches ont été contaminées). Toutes les souches étaient sensibles à la streptomycine, rifampicine, tétracycline et ciprofloxacine et six souches étaient résistantes à l'association triméthoprim–sulfométhoxazole (Tableau 5).

Les quatre souches séquencées, ont montré 99 % de similarité avec *B. melitensis* biovar *abortus* (souche NCTC 103316T Nombre GenBank AM 158979.1).

4. Traitement et évolution

Dans 93 % des cas, l'antibiothérapie a comporté l'association rifampicine–doxycycline. Pour les formes septicémiques, la durée moyenne a été de six semaines. L'antibiothérapie a été maintenue durant une moyenne de 12 mois, complétée par le drainage chirurgical de l'abcès extradural chez un patient au cours des spondylodiscites. Les neurobrucelloses ont été traitées par l'association rifampicine–cotrimoxazole durant une moyenne de dix mois. L'atteinte cardiaque a été traitée par une trithérapie doxycycline–rifampicine et streptomycine pendant neuf mois. Une corticothérapie de courte durée a été prescrite chez un patient présentant une épidurite. L'évolution a été favorable chez 44 patients. Un malade est décédé. Aucune rechute n'a été rapportée.

5. Discussion

L'OMS estime 500 000 nouveaux cas de brucellose par an dans le monde [6]. La brucellose est endémique dans notre

pays. Dans notre série, la contamination digestive prédominait (62,2 %), cela serait dû probablement aux habitudes tunisiennes d'ingestion de fromage et de lait crus non pasteurisés, mais aussi à certaines pratiques artisanales de fabrication. Malgré le programme de vaccination des animaux, la brucellose sévit encore dans certains foyers ruraux. Le mode de contamination le plus fréquent des professionnels à risque reste le contact avec les animaux infectés (88 %) [7]. Les deux personnels du laboratoire ont été probablement contaminés lors de culture de brucelles, ce mode de contamination a été également décrit par de nombreux auteurs [3,7,8].

La brucellose humaine est souvent difficile à diagnostiquer à cause de la diversité et la non spécificité des manifestations cliniques. Les signes les plus fréquents sont fièvre, sueurs, anorexie, asthénie, céphalées, myalgies, arthralgies [9,10]. Dans notre série, la fièvre était présente dans 93 % des cas, les sueurs dans 82 % des cas et les myalgies dans 78 % des cas. Les signes physiques étaient inconstants et la splénomégalie était le signe le plus fréquent (51 %) suivi par l'hépatomégalie (15 %). Les complications brucelliennes sont diverses et peuvent toucher plusieurs organes. Elles peuvent être ostéoarticulaires, gastro-intestinales, cardiovasculaires, génito-urinaires, hématologiques et cutanées [10]. Dans notre étude, les complications répertoriées sont ostéoarticulaires (20 %), neurologiques (4 %), cardiaques (2 %) et orchépididymaires (2 %). La spondylodiscite était la localisation articulaire la plus fréquente dans notre série. En effet, les localisations secondaires les plus fréquentes sont ostéoarticulaires [11], elles surviennent dans 20 à 85 % des cas [10]. Il a été rapporté que les signes articulaires sont plus fréquents chez les patients infectés par *B. melitensis* [9,12]. Un cas d'endocardite brucellienne a été noté. L'endocardite brucellienne, complication redoutable de la brucellose représente la première cause de décès en zone d'endémie [13].

Les signes biologiques de la brucellose sont également non spécifiques. Le nombre de leucocytes est diminué ou normal et la vitesse de sédimentation est normale ou augmentée [10]. Dans notre série, le syndrome inflammatoire a été retrouvé dans 80 % des cas. En revanche, la leucopénie a été notée seulement dans 49 % des cas. Dans tous les cas, le diagnostic sérologique était positif et il a associé au moins deux réactions sérologiques dans 95 % des cas. Pour deux cas, le diagnostic a été posé sur l'hémoculture positive. En effet, d'après Busappa et al., un titre de Wright de 1/20 n'élimine pas une brucellose et inversement un titre supérieur à 1/160 ne signifie pas toujours une infection active dans les zones d'endémie [5]. Les hémocultures étaient positives dans 39 % des cas, nos résultats sont proches de ceux d'Ayger et al. (41,1 %) et de ceux de Busappa et al. (55,3 %) [5]. En effet, les hémocultures sont positives dans 70 à 80 % dans les formes aiguës et dans 30 à 50 % dans les formes focalisées. Cela dépend de l'espèce, du milieu de culture, de la quantité de bactéries et de la technique employée [5,14]. Les souches séquencées ont montré 99 % de similarité avec *B. melitensis* biovar *abortus*. La résistance aux antibiotiques de *Brucella* est rare. Aucune souche isolée n'était résistante à la rifampicine alors que des souches de sensibilité diminuée ont été décrites par Turkmani et al. [15]. Quarante-six pour cent des souches étaient résistantes à l'association triméthoprime–sulfométhoxazole, les CMI n'ont

cependant pas été faites parce que notre laboratoire n'est pas du type P3. De nombreux auteurs ont décrit des souches de sensibilité diminuée à l'association triméthoprime–sulfométhoxazole (Turkmani et al. : 11 %) [15,16].

Le traitement de choix de la brucellose est l'association rifampicine–tétracycline ou streptomycine pendant six semaines. Les rechutes sont rares, surviennent généralement dans la première année de traitement et elles sont dues à une mauvaise observance du traitement [15,17].

La brucellose pose un problème de Santé publique dans les pays à niveau socioéconomique bas. Les antibiotiques restent encore actifs, mais on n'est pas à l'abri d'une émergence du fait de l'utilisation de la rifampicine dans le traitement de la tuberculose et comme alternative thérapeutique dans de nombreuses pathologies.

Références

- [1] Seimensis A, Morelli D, Mantovani A. Zoonoses in the Mediterranean region. *Ann Ist Super Sanita* 2006;42(4):437–45.
- [2] Brown SD, Traczewski MM, The Brucella QC Working Group. Broth microdilution susceptibility testing of *Brucella* species: quality control limits for ten antimicrobial agents against three standard quality control strains. *J Clin Microbiol* 2005;43(11):5804–7.
- [3] Maurin M. La brucellose à l'aube du 21^{ème} siècle. *Med Mal Infect* 2005;35:6–16.
- [4] Refai M. Incidence and control of brucellosis in the Near-East region. *Vet Microbiol* 2002;90:81–110.
- [5] Basappa G, Mallanagouda S, Rajendra C, Mallana S, VeerappaK, Piarayla K, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 year's experience in an endemic area. *J Med Microbiol* 2006;55:897–903.
- [6] Queipo-Ortuno MI, Morata P, Ocon P, Manchado P, Colmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. *J Clin Microbiol* 1997;35:2927–30.
- [7] Garin-Bastuji B, Delcuelle F. Les brucelloses humaine et animale en France en l'an 2000. Situation épidémiologique – Programmes de contrôle et d'éradication. *Med Mal Infect* 2001; 31(suppl 2):202–6.
- [8] Young EJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis* 1995;21:283–90.
- [9] Trujillo IZ, Zavala AN, Caceres JG, Miranda CQ. Brucellosis. *Infect Dis Clin North Am* 1994;8:225–41.
- [10] Solera J, Martinez-Alfaro E, Espinosa A. Recognition and optimum treatment of brucellosis. *Drugs* 1997;53:245–56.
- [11] Solera J, Lozano E, Martinez-Alfaro E, Espinosa A, Castillejos ML, Abad L. Brucellar spondylitis: review of 35 cases and literature survey. *Clin Infect Dis* 1999;29:1440–9.
- [12] Ariza J, Pujol M, Valverde J, Nolla JM, Rufi G, Viladrich PF, et al. Brucellar sacroiliitis: findings in 63 episodes and current relevance. *Clin Infect Dis* 1993;16:761–5.
- [13] Reguera JM, Alarcon A, Miralles F, Pachon J, Juarez C, Colmenero JD. Brucella endocarditis: clinical, diagnosis, and therapeutic approach. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2003;22:647–50.
- [14] Basappa G, Mantur, Smita Mangalgi S. Evaluation of conventional castenada and lysis centrifugation blood culture techniques for dianosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2004;42:4327–8.
- [15] Turkmani A, Ioannidis A, Christidou A, Psaroulaki, Loukaides, Tselentis Y. In vitro susceptibilities of *Brucella melitensis* isolates to eleven antibiotics. *Ann Clin Microbiol* 2006;5:1–4.
- [16] Baykam N, Esener H, Ergonul O, Eren S, Celikbas AK, Dokuzoguz B. In vitro antimicrobial succetbibility ob Brucelle species. *Intern J Antimicrob Agents* 2004;23:405–7.
- [17] Aygen B, Doganay M, Sumerkan B, Yildiz O, Kayabas U. Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. *Med Mal Infect* 2002;32:485–93.