

REPUBLIQUE DU MALI

*Un Peuple-Un But-Une Foi*



\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES  
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



**FACULTE DE PHARMACIE**

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

N° \_\_\_\_\_/

Intérêt du diagnostic moléculaire des pathogènes  
intracellulaires : cas de la brucellose et de la  
toxoplasmose à Bamako.

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le 18/11/2019 devant la faculté de pharmacie pour  
l'obtention du grade de

**DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT)**

Par

**Mariam Traore**

**JURY**

**Président du jury :** Professeur Akory Ag IKNANE

**Membres :** Docteur Garan DABO  
Docteur Amadou DOUMBIA  
Docteur Adama DAOU

**Co-directeur de thèse :** Docteur Lassina DOUMBIA

**Directeur de thèse :** Professeur Ousmane KOITA

## LISTE DES MEMBRES DE L'ADMINISTRATION ET DU CORPS ENSEIGNANT A LA FACULTÉ DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

### ADMINISTRATION

**Doyen:** Boubacar TRAORE, Professeur

**Vice-doyen:** Ababacar I. MAÏGA, Professeur

**Secrétaire principal:** Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

**Agent comptable:** Famalé DIONSAN, Inspecteur des finances.

### PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
7	Boukassoum	HADARA	Législation
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
9	Alou A.	KEITA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Bréhima	KOUMARE	Bactériologie-Virologie
13	Abdrmane S.	MAÏGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

## **DER: SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

### **1. PROFESSEURS /DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
7	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
8	Ousmane	KOITA	Biologie Moléculaire
9	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

### **2. MAITRES DE CONFERENCE/MAITRES DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
3	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>chef de DER</b>
5	Ousmane	TOURE	Santé Publique /Santé Environnement

### **3. MAITRES ASSISTANTS /CHARGES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Mohamed	AG BARAÏKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biochimie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrehima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique/ Biostatistiques
15	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
16	Birama Apho	LY	Santé publique
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
18	Issaka	SAGARA	Santé publique/Biostatistiques
19	Samba Adama	SANGARE	Bactériologie-Virologie
20	Fanta	SANGHO	Santé publique/Santé communautaire
21	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé publique/Biostatistiques

#### **4. ASSISTANTS /ATTACHES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
4	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
5	Merepen dite Agnès	GUINDO	Immunologie
6	Oumar	GUINDO	Epidémiologie
7	Falaye	KEÏTA	Santé publique /Santé Environ.
8	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
9	Yacouba	MAÏGA	Biostatistiques
10	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
11	Oumar	SANGHO	Epidémiologie
12	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

#### **DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

##### **1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAÏGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>chef de DER</b>

##### **2. MAÎTRES DE CONFERENCES/MAÎTRES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
-	Néant	-	-

### **3. MAÎTRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Loseni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
6	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
7	Moussa	SANOGO	Gestion
8	Adjaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

### **4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
6	Assitan	KALOGA	Législation
7	Ahmed	MAÏGA	Législation
8	Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
9	Aboubacar	SANGHO	Législation
10	Bourama	TRAORE	Législation
11	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
12	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
13	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
14	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

**DER: SCIENCES DU MEDICAMENT**

**1. PROFESSEURS/ DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

**2. MAÎTRES DE CONFERENCES /MAÎTRES DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie <b>chef de DER</b>

**3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

#### **4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdrahamane	DIARRA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
8	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
9	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
10	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

#### **DER: SCIENCES FONDAMENTALES**

##### **1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

##### **2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée



### **3. MAÎTRES ASSISTANTS /CHARCHES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOMS</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
2	Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale

### **4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

### **CHARGES DE COURS (VACCATAIRES)**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique

12	Aboubakary	MAÏGA	Chimie Organique
13	Massambou	SACKO	SCMP/SIMR
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
16	Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
19	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et pathologie Médicale
20	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

**DEDICACES ET  
REMERCIEMENTS**

## **DEDICACES :**

Au nom d'Allah le tout Miséricordieux, le très Miséricordieux.

Louange à Allah le tout puissant qui par sa grâce et sa miséricorde m'a permis d'atteindre ce jour et de réaliser ce rêve.

Je dédie ce travail à

### **Mes parents : Dr Sékou Traoré et Ténin Harama**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon éducation et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos sacrifices, bien que je ne saurais jamais vous le rendre assez. Puisse Allah, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie pour goûter le fruit de ce travail et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive pas.

## **REMERCIEMENTS :**

### **Mes oncles et mes tantes**

Vous n'avez pas manqué de m'apporter vos soutiens à chaque fois que cela était nécessaire. Puisse cette thèse être le témoignage de mon affection et de mon respect. Soyez-en remercié.

### **A ma grand-mère Mariam SAMAKE**

Soit rassurée de ma sincère reconnaissance pour ton soutien et tes conseils.

### **Mes frères, cousins et cousines**

Mes remerciements les plus sincères vous ont adressé pour votre soutien et vos conseils par ce travail, je vous exprime toute ma gratitude.

### **Mes amies : Koudedia Camara, Aminou Rabia Mamane Idé, Fatoumata kassé**

Vous avez été pour moi des compagnons de lutte. Ensemble nous avons enduré les souffrances et les difficultés. Merci pour vos affections et vos sympathies.

Merci au **Docteur Youssouf Diarra** et à **Ibrahim Keita** pour votre aide et vos conseils.

Merci à **tout le personnel du LBMA** pour votre disponibilité et votre soutien qui n'ont jamais fait défaut. Je suis fier d'avoir appris auprès des meilleurs.

Aux **camarades de la dixième promotion du Numerus clausus** surtout ceux qui sont internes au LBMA, merci puisse notre collaboration continuer.

**HOMMAGES AUX  
MEMBRES DU JURY**

## **A notre Maître et Président du jury**

**Professeur Akory Ag IKNANE**

- ✓ **Maitre de conférences en Santé Publique à la FMOS et FAPH ;**
- ✓ **Président du Réseau Malien de Nutrition (REMANUT) ;**
- ✓ **Secrétaire Général de la société Malienne de Santé Publique (SOMASAP) ;**
- ✓ **Ancien Directeur Général de l'Agence Nationale d'Investissement des Collectivités Territoriales (ANICT) ;**
- ✓ **Ancien Directeur Général de l'Agence Nationale pour la Sécurité Sanitaire des Aliments (ANSSA) ;**
- ✓ **Ancien Chef du service de Nutrition de l'INRSP ;**
- ✓ **Premier Médecin Directeur de l'ASACOBA ;**
- ✓ **Directeur Général de l'Institut National de Santé Publique.**

Cher Maître,

Vous nous faites un très grand honneur et un réel plaisir en acceptant de présider ce jury malgré vos nombreuses sollicitations. Votre disponibilité, votre rigueur scientifique, votre esprit d'ouverture et votre amour pour le travail bien fait nous ont particulièrement impressionnés. La qualité de vos enseignements et vos performances Intellectuelles font de vous un maître model. Soyez rassurés que nous sommes très fiers d'être comptés parmi vos élèves. En espérant que par ce travail nous avons comblé vos attentes, veuillez recevoir cher maître, l'expression de notre profonde gratitude.

## **A notre Maitre et juge**

### **Docteur Garan DABO**

- ✓ **Médecin Infectiologue ;**
- ✓ **Maître Assistant à la FMOS ;**
- ✓ **Spécialiste des maladies Infectieuses et Tropicales ;**
- ✓ **Praticien à l'hôpital du Mali ;**
- ✓ **Certifié en épidémiologie ;**
- ✓ **Membre de la Société Africaine de Pathologie Infectieuse (SAPI) ;**
- ✓ **Membre de l'Association Marocaine des Maladies auto-immunes ;**
- ✓ **Membre de la Société Malienne de lutte et de contrôle des Résistances aux Antimicrobiens (SOMARAM).**

Cher maître,

C'est un grand honneur et un réel plaisir de vous compter parmi les membres du jury, malgré vos multiples et importantes occupations. Votre disponibilité, votre simplicité, votre rigueur dans la démarche scientifique et nous ont beaucoup marqué. Avec tout le respect et toutes les considérations, nous vous prions de bien vouloir recevoir nos humbles remerciements pour la qualité de l'encadrement.

## **A notre Maitre et Juge**

### **Docteur Amadou DOUMBIA**

- ✓ **Docteur en médecine vétérinaire ;**
- ✓ **Ancien Chef du département des sciences et techniques d'élevage ;**
- ✓ **Membre du comité de lecture de la Société Malienne de Pathologie Infectieuse et Tropicale (SOMAPIT) ;**
- ✓ **Directeur de la SPANA Mali ;**
- ✓ **Enseignant chercheur à l'Institut Polytechnique de formation et de recherche Appliquée (IPR/IFRA) ;**
- ✓ **Chef du département de chirurgie des Animaux à l'IPR/IFRA.**

Cher Maitre,

Nous sommes très honorés que vous ayez accepté de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Vous nous avez reçus avec une grande disponibilité et nous avons été marqués

par votre esprit scientifique et critique. Merci pour vos corrections et suggestions très utiles qui ont permis d'améliorer notre travail. Trouvez ici l'expression de notre profonde admiration et nos remerciements les plus sincères.

## **A notre Maitre et Juge**

### **Docteur Adama DAOU**

- ✓ **Spécialiste en gestion de projet et de programmes de santé ;**
- ✓ **Spécialiste en Santé publique ;**
- ✓ **Chargé de recherche au centre national d'appui à la lutte contre la maladie (CNAM) ;**
- ✓ **Chef du département Formation ;**
- ✓ **Ancien Directeur du centre de traitement Ebola ;**
- ✓ **Président de la commission sociale et conflit du conseil national de l'ordre des médecins du Mali ;**
- ✓ **Ancien trésorier du conseil national de l'ordre des médecins du Mali ;**
- ✓ **Membre du comité d'éthique de l'INRSP ;**
- ✓ **Membre du conseil national de sécurité alimentaire.**

Cher Maitre,

Vous nous faites l'honneur et un grand plaisir en acceptant de siéger dans ce jury. Nous avons été marqués par la simplicité, le sens du devoir et la responsabilité dont vous faites preuve. Nous vous prions de trouver, ici, l'expression de notre vive reconnaissance et notre profond respect.



## **A notre Maitre et co-directeur de thèse**

### **Docteur Lassina DOUMBIA**

- ✓ **Docteur en Pharmacie ;**
- ✓ **Chef unité zoonose (LBMA).**

Cher Maitre,

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de codiriger ce travail malgré vos multiples occupations nous a réconfortés. Permettez-nous de vous adresser nos remerciements les plus sincères. Votre rigueur scientifique, votre disponibilité et votre intérêt pour le travail bien fait font de vous un Maitre à admirer. Par ailleurs, nous vous prions d'accepter nos excuses pour toutes les fois où nous n'avons pas été à la hauteur de votre mission.

## **A notre Maître et Directeur de thèse**

### **Professeur Ousmane KOITA**

- ✓ **Pharmacien Biologiste ;**
- ✓ **Professeur en parasitologie moléculaire ;**
- ✓ **Chargé de cours de biologie moléculaire appliquée à la FAST et de biologie animale à la faculté de Pharmacie ;**
- ✓ **Ancien Directeur-Adjoint du SEREFO ;**
- ✓ **Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Appliquée de la FAST.**

Cher Maître,

Nous avons été très séduits par votre conviction pour la recherche, votre disponibilité et la qualité de votre enseignement. Votre esprit méthodique, vos qualités de pédagogue, votre rigueur scientifique, votre accueil toujours courtois et affectif, votre humanisme et votre modestie force respect et incite à l'admiration. Nous sommes fiers et heureux d'être comptés parmi vos élèves. Veuillez recevoir, cher Maître toutes notre considération et profonde gratitude.

## Liste des sigles et abréviations

**al** : Associés  
**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé  
**PCR** : Polymerase Chain Reaction  
**IFI** : Imminofluorescence Indirecte  
**LCV** : Laboratoire Central Vétérinaire  
**LPS** : Lipopolysaccharide  
**BCV** : *Brucella* Containing Vacuole  
**ER** : Réticulum Endoplasmique  
**Mb** : Mégabase  
**Kb** : Kilobase  
**Glk** : Glucokinase  
**Vdcc** : Voltage-dependent-calcium-channel  
**°C** : Degré Celsius  
**pH** : Potentiel hydrogène  
**P30** : Protéine 30kd  
**SAG** : Surface antigen  
**HCl** : Chlorure d'hydrogène  
**LCR** : Liquide céphalorachidien  
**TAT** : Test d'Agglutination en Tube  
**SAW** : Serodiagnostic de Wright  
**EAT** : Epreuve de l'Antigène Tamponné  
**RB** : Rose Bengale  
**ELISA** : Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay.  
**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone  
**TFC** : Test de fixation de complément  
**IgG** : Immunoglobuline G  
**IgM** : Immunoglobuline M  
**IgA** : Immunoglobuline A  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism  
**ISAgA** : Immuno-Sorbent Agglutination Assay  
**UV** : Ultra-violet

**ARN** : Acide ribonucléique

**IV** : Intraveineux

**CNAM** : Centre National d'Appui à la Lutte contre la Maladie

**VIH** : Virus de l'immunodéficience Humaine

**Sida** : Syndrome d'immunodéficience acquise

**IST** : Infections Sexuellement Transmissibles

**LBMA** : Laboratoire de Biologie moléculaire Appliquée

**EDTA** : Éthylènediaminetétraacétique

**NaCl** : Chlorure de sodium

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**KCl** : Chlorure de potassium

**Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Sodium Dihydrogen Phosphate

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Dihydrogénophosphate de potassium

**mM** : Milli Molaire

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**SDS** : Sodium lauryl sulfate

**Rpm** : Révolutions par minute

**PK** : Protéinase K

**μl** : Microlitre

**MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de magnésium

**DNTPs** : Deoxynucleotide triphosphates

**TBE** : Tris Borate EDTA

**Bp** : Base pair

**μm** : Micromètre

**Kd** : Constante de dissociation

**g** : Gramme

**V** : Volt

**OCCGE** : Organisation pour la Coopération et la Coordination dans la lutte contre les Grandes Endémies

**GAIA** : Global Alliance To Immunize Against

**EPST** : Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique

**FMC** : Formation Médicale Continue

## Table des matières

1. Introduction :	1
1.1 Objectifs	3
1.1.1 Objectif général	3
1.1.2 Objectifs spécifiques	3
2. Généralités	4
Chapitre 1 : Brucellose	4
1. Définition générale	4
2. Historique	4
3. Epidémiologie	4
4. Agent pathogène	5
4.1 Caractères Biochimiques	6
4.2 Structures Antigéniques	6
4.3 Pathogénie	7
4.4 Structure génétique	9
4.4.1 Gènes et protéines d'intérêt de l'étude	9
4.5 Résistance	9
5. Transmission	10
6. Symptômes	10
6.1 Chez l'homme	10
6.2 Chez l'animal	12
7. Diagnostic	12
8. Traitement	15
9. Prophylaxie	16
Chapitre 2 : Toxoplasmose	17
1. Définition générale	17
2. Historique	17
3. Epidémiologie	17
4. Agent pathogène	20
4.1 Structure biochimique	21
4.2 Source du parasite	21
4.3 Structure génétique	21
4.3.1 Gènes et protéines d'intérêt de l'étude	22
4.3.2 Cycle du parasite	22

4.3.3	Physio-pathogénie de la toxoplasmose.....	24
5.	Transmission .....	26
6.	Symptômes .....	27
6.1	Chez l’homme .....	27
6.2	Chez les animaux.....	28
7.	Diagnostic.....	29
8.	Traitement .....	31
9.	Prophylaxie.....	32
3.	Méthodologie.....	33
3.1.	Cadre et type de l’étude.....	33
3.2	Critères d’inclusion et de non inclusion de l’étude .....	34
3.3	Aspects bioéthiques .....	35
3.4	Echantillonnage .....	35
3.5	Méthodologie au Laboratoire .....	35
3.5.1	Prélèvements : ils ont été réalisés au CNAM. ....	35
3.5.2	Tests sérologiques : Ils ont été réalisés au CNAM. ....	36
3.5.3	Tests moléculaires : Ils ont été réalisés au LBMA. ....	36
3.6	Collecte, gestion et Analyse des données.....	43
4.	Résultats .....	43
4.1	Résultats descriptifs.....	43
4.1.1	Résultats sociodémographiques.....	43
4.2	Résultats analytiques .....	45
4.2.1	Résultats des tests sérologiques.....	45
4.2.2	Résultats des tests moléculaires.....	45
5.	Commentaires et Discussion .....	50
6.	Conclusion.....	54
7.	Recommandations : .....	55
8.	Références .....	xxi
	FICHE SIGNALÉTIQUE .....	xxxviii

### Liste des Tableaux

<b>Tableau I:</b> Classification systématique de <i>Brucella</i> .	6
<b>Tableau II:</b> Caractères biochimiques de <i>Brucella</i> .	6
<b>Tableau III:</b> Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes en consultation prénatales dans quelques pays d'Afrique.	19
<b>Tableau IV :</b> Classification systématique de <i>Toxoplasma gondii</i>	21
<b>Tableau V:</b> Composition du PBS	37
<b>Tableau VI:</b> Répartition des patients en fonction du sexe.	43
<b>Tableau VII:</b> Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge.	43
<b>Tableau VIII:</b> Répartition des patients en fonction de leur lieu de résidence	44
<b>Tableau IX:</b> Répartition des échantillons en fonction de la positivité de la toxoplasmose à la sérologie	45
<b>Tableau X:</b> Répartition des échantillons en fonction de la positivité de la brucellose à la sérologie	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Tableau XI:</b> Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène <i>vdcc</i> de <i>Brucella spp.</i>	45
<b>Tableau XII:</b> Répartition des échantillons positifs au gène <i>vdcc</i> de <i>Brucella spp.</i> en fonction du sexe	46
<b>Tableau XIII:</b> Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène <i>glk</i> de <i>Brucella abortus</i>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Tableau XIV:</b> Répartition des échantillons positifs au gène <i>glk</i> de <i>Brucella abortus</i> en fonction du sexe	46
<b>Tableau XV:</b> Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène <i>SAG 2</i> de <i>Toxoplasma gondii</i>	46
<b>Tableau XVI:</b> Répartition des échantillons positifs au gène <i>SAG 2</i> de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction du sexe	47
<b>Tableau XVII:</b> Répartition des échantillons positifs au gène <i>SAG 2</i> de <i>Toxoplasma gondii</i> en fonction de la positivité au gène <i>vdcc</i> de <i>Brucella spp.</i>	47
<b>Tableau XVIII:</b> Test de performance diagnostique de la brucellose	47
<b>Tableau XIX:</b> Test de performance diagnostique de la toxoplasmose	48

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Incidence mondiale de la brucellose .....	4
<b>Figure 2:</b> L'interaction Brucella-macrophage .....	8
<b>Figure 3:</b> Position du gène <i>glk</i> de <i>Brucella abortus</i> .....	9
<b>Figure 4:</b> Représentation d'un Tachyzoite (à gauche) et d'un Bradyzoite (à droite) de Toxoplasma gondii .....	20
<b>Figure 5 :</b> Cycle biologique de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	23
<b>Figure 6:</b> Interaction Toxoplasma - Macrophage.....	26
<b>Figure 7:</b> Taille attendue du gène <i>SAG 2</i> . .....	40
<b>Figure 8:</b> Taille attendue du gène <i>glk</i> .....	40
<b>Figure 9:</b> Taille attendue du gène <i>vdcc</i> . .....	40

# INTRODUCTION



## 1. Introduction :

La brucellose également appelée fièvre de Malta, fièvre sudoroalgique, fièvre ondulante mélitococcie ou fièvre méditerranéenne est une maladie transmise à l'homme par les animaux (anthropozoonose) due à des coccibacilles du genre *Brucella* [1]. La maladie entraîne des conséquences sérieuses chez l'homme et dans les élevages telles que les avortements, mortinatalité, stérilité des adultes, pertes en lait et en viande [2]. Cette situation est doublement préoccupante, puisque la brucellose est à la fois une maladie humaine sévère qui retentit sur la sante publique et une maladie animale dont les conséquences économiques sont loin d'être négligeables [2].

Plus de 500 000 nouveaux cas de brucellose se produisent chaque année mais avec une répartition globale inégale [3]. Dans les pays en voie de développement, le pourtour de la méditerranée, le Moyen-Orient, l'Asie de l'Ouest et l'Amérique latine la maladie animale représente un coût économiquement important [3]. La brucellose est un véritable problème de santé publique dans le monde et dans toute l'Afrique [4]. Au Mali, elle sévit surtout dans les élevages intensifs périurbains (Bamako, Ségou, Sikasso, Mopti) [3]. Une étude a révélé en 2002 par Bonfoh *et al.* que les anticorps anti-*Brucella* étaient présents dans 30 % des échantillons de lait de vache [1]. En 2006, Steinmann *et al.* évoquent l'endémicité de la brucellose humaine en zone périurbaine de Bamako avec comme facteurs de risque le contact direct avec les animaux et la consommation de lait cru [3]. Bien que la brucellose humaine ait été relativement peu étudiée en Afrique subsaharienne, l'OMS (2006), considère que plus qu'ailleurs, cette maladie représente une cause importante de morbidité, d'incapacité de travail et de réduction d'activité dans cette partie du monde. Cependant, très peu est connu concernant la prévalence humaine de cette maladie en Afrique subsaharienne [5]. De manière générale, la brucellose humaine est sous diagnostiquée en Afrique subsaharienne, sans doute en raison de son tableau clinique qui peut être confondu à celui d'autres maladies fébriles notamment la fièvre typhique, la fièvre paratyphique et le paludisme [15,14]. C'est une maladie à déclaration obligatoire selon l'OMS mais demeure négligée en raison de l'absence d'un dépistage systématique et de stratégie adaptée de lutte [3].

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite due à un protozoaire Apicomplexa, *Toxoplasma gondii*. Elle est souvent bénigne chez l'homme [7]. Sur le plan épidémiologique, la toxoplasmose est une des plus fréquentes infections parasitaires dans le monde entier. Un tiers de la population humaine est infecté par *Toxoplasma gondii* [7]. Bien que son infestation reste asymptomatique chez 90 % de personnes immunocompétentes, elle peut être dramatique

pour le patient immunodéprimé, les femmes enceintes, le fœtus et le nouveau-né [8]. Néanmoins, des cas sévères et mortels de toxoplasmose acquise ont été rapportés sur des sujets immunocompétents en Guyane Française [9] et au Canada [10]. Le taux de transmission materno-fœtale est estimé à 30-40 % [10]. L'incidence annuelle des séroconversions chez les femmes enceintes a été évaluée entre 2800 et 6000 par an en France avec 1000 cas de toxoplasmose congénitale [11]. Aux Etats-Unis d'Amérique, 400 à 4000 enfants naissent chaque année avec cette maladie [8]. En Afrique, les pays dans lesquels cette séroprévalence est la plus élevée (>50 %) sont l'Ethiopie, le Gabon, le Nigeria et le Mali [3]. Elle avoisine 50 % au Bénin, en Centrafrique, au Congo, en Egypte, au Kenya, au Soudan et est inférieure à 50 % au Niger, en Tanzanie et dans d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest [3]. Chez les femmes en âge de procréer, elle est de 53,6 % au Togo et au Bénin, de 77 % au Cameroun et de 84 % à Madagascar [12]. Au Mali, la prévalence de la toxoplasmose a été de 65 % chez les adultes en milieu urbain, 56 à 58 % chez ceux du milieu rural, 33 à 40 % chez les enfants âgés de moins de 16 ans en milieu urbain et 51 à 53 % chez ceux du milieu rural en 1976 [13].

Le diagnostic au laboratoire de ces deux maladies peut être effectué de plusieurs manières. Actuellement, il est basé sur des tests microbiologiques et sérologiques. Ces tests sont fastidieux et présentent un risque élevé pour les personnes qui les exécutent [14]. Ils indiquent le niveau d'exposition des sujets à ces pathogènes, mais ne révèlent pas leur présence directe dans l'organisme [14,15]. Or *Brucella* et *Toxoplasma* sont des pathogènes intracellulaires qui ont la particularité d'infecter les premières cellules de défense de l'organisme comme les macrophages. Ils sont donc difficiles à mettre en évidence car leurs antigènes n'élicitent pas les anticorps de manière continue. La biologie moléculaire avec la technique de la PCR permet de les identifier dans l'organisme. [14,15]. Ceci nous a amené à formuler l'hypothèse suivante : la PCR est plus sensible que les tests sérologiques dans le diagnostic de la brucellose et de la toxoplasmose ? Le but de cette étude est d'évaluer l'apport de la biologie moléculaire par rapport à la sérologie dans le diagnostic de la brucellose et de la toxoplasmose à Bamako, au Mali.

## **1.1 Objectifs**

### **1.1.1 Objectif général**

Evaluer la contribution de la technique moléculaire par rapport à la technique sérologique.

### **1.1.2 Objectifs spécifiques**

- Estimer la séoprévalence de la brucellose et de la toxoplasmose à Bamako ;
- Estimer la prévalence de *Brucella spp.* par la PCR à Bamako ;
- Estimer la prévalence de *Brucella abortus* par la PCR à Bamako ;
- Estimer la prévalence de la toxoplasmose par la PCR à Bamako.

# GENERALITES

## 2. Généralités

### Chapitre 1 : Brucellose

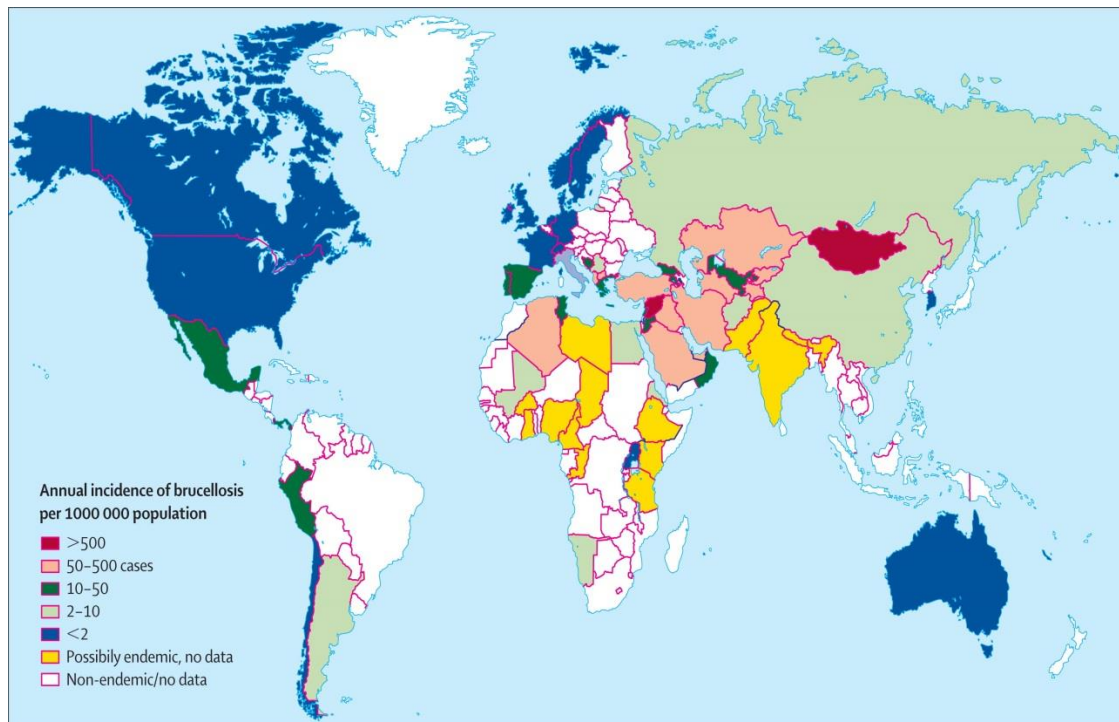
#### 1. Définition générale

La brucellose est une maladie commune à l'homme et aux animaux (anthropozoonose) due à des coccibacilles du genre *Brucella* [1]. La brucellose couramment appelé en bambara « Konofilibana », aussi appelée fièvre de Malte ou fièvre ondulante, est causée par une bactérie du genre *Brucella* qui vit naturellement chez les animaux et peut se transmettre à l'homme dans certaines circonstances [3].

#### 2. Historique

La brucellose a été décrite pour la première fois en 1861 sur l'île de Malte par un médecin anglais nommé Marston. En 1887, David Bruce isola la bactérie responsable de la maladie de la rate d'un soldat, le germe eut le nom de *Micrococcus melitensis* [1]. En 1897, la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum des malades est démontrée par Almroth Wright. En 1905, Zamitt en voulant étudier la maladie sur la chèvre découvrit qu'elles étaient toutes positives au test de Wright et que la brucellose était donc une anthropozoonose [1].

#### 3. Epidémiologie



**Figure 1** : Incidence mondiale de la brucellose [5].

Par sa large répartition géographique et par le nombre élevé d'espèces animales (ruminants, suidés, carnivores, rongeurs, etc.) pouvant être infectées naturellement, la brucellose constitue un problème mondial [2]. L'incidence et la prévalence de la brucellose varient d'un pays à l'autre [17]. La fréquence de la maladie aux États-Unis est estimée de 4 à 10 % [18].

En Afrique, excepté l'Afrique du Sud, des traces sérologiques ont été retrouvées dans plusieurs pays [3]. La répartition des principales espèces de *Brucella* et de leurs biotypes n'est pas strictement liée à des aires géographiques bien définies. Dans la plupart des régions du monde, ces trois espèces sont retrouvées (*abortus*, *melitensis*, *suis*). Toutefois quelques traits dominants peuvent être dégagés.

*Brucella abortus* biotype 3 est la souche la plus fréquemment rencontrée en Afrique subsaharienne, isolée dans plusieurs pays notamment au Sénégal, en Côte d'Ivoire, au Niger, au Cameroun, au Togo, au Tchad, au Rwanda, au Kenya et en Ouganda [12,27,28,29,30,31,32]. Au Mali, des travaux effectués par Tounkara *et al.* (1994) ont permis d'isoler quatre souches de *B. abortus* sans que le biotype ne soit déterminé [19]. C'est ainsi que *B. abortus* domine nettement en Afrique (excepté l'Afrique du Nord). En Europe, c'est *B. abortus* également qui domine excepté dans les zones méditerranéennes, l'Europe centrale est marquée par la présence de *B. suis* [1]. Une récente étude en Tanzanie (zone d'endémie du paludisme) indique que des zoonoses bactériennes sont identifiées dans 26,2 % des cas de fièvre (dont 13,6 % concerne la brucellose). Dans une autre revue bibliographique portant sur 653 patients fébriles dans le Nord de l'Éthiopie [26], *Brucella abortus* a été isolé dans 6,3 % des cas [12,34].

Au Mali, des études faites sur le lait par Bonfoh *et al.* en 2002, indiquent qu'elle est importante avec 53 % des fermes infectées et une prévalence de 15 % chez les animaux. A Mopti, la séroprévalence de *Brucella melitensis* était de 58 % et celle de *Brucella abortus* de 49 % selon une étude faite par Dao *et al.* en 2009 [25,35]. Pendant la période 2010-2016 dans le Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV), sur 7493 échantillon de sérums bovins 1087 se sont révélés positifs (14,5 %) au sérodiagnostic de la brucellose [3].

#### 4. Agent pathogène

*Brucella* est un coccibacille Gram négatif, immobile, non sporulé et aérobie stricte de 0,5 à 0,7 µm de diamètre et 0,6 à 1,5 µm de longueur [29]. C'est une bactérie à développement intracellulaire facultatif et est pathogène essentiellement chez l'animal mais aussi chez l'homme [8,12].

❖ **Classification**

**Tableau I:** Classification systématique de *Brucella* [30].

<b>Embranchement</b>	Alphas proteobacteria (sous-groupe a2)
<b>Ordre</b>	Rhizobiaceae
<b>Famille</b>	Brucellaceae
<b>Genre</b>	<i>Brucella</i>
<b>Espèces</b>	<i>B.melitensis</i> , <i>B.abortus</i> , <i>B.ovis</i> , <i>B.canis</i> , <i>B.neotomae</i> <i>B.ceti</i> , <i>B.pinnipedialis</i> , <i>B.microti</i> , <i>B.inopinata</i> , <i>B.suis</i> .

Le genre *Brucella* compte dix espèces en fonction d'une spécificité relative vis-à-vis de leur hôte naturel [3]. On distingue : *B. melitensis* (3 biovars), *B. abortus* (9 biovars) le plus souvent rencontré en Afrique, *B. suis* (5 biovars), *B. ovis*, *B. canis* et *B. neotomae*. Deux espèces identifiées chez des mammifères marins ont été proposées: *B. ceti* chez les dauphins et *B. pinnipedialis* chez les pinnipèdes) [31]. En 2007, une autre espèce *B. microti* est isolée chez les campagnols (*Microtus arvalis*) en république Tchèque et en 2008 chez les renards sauvages en Autriche [32]. L'espèce *B. inopinata* a été isolée aux Etats Unis à partir d'une prothèse mammaire d'une patiente [33].

**4.1 Caractères Biochimiques [1]**

**Tableau II:** Caractères biochimiques de *Brucella*.

<i>Brucella</i>							
Réactions	Catalase	Oxydase	Uréase	Nitrate	Citrate	Indole	VP
Résultats	+	+	+	+	+	+	+

**4.2 Structures Antigéniques**

Les *Brucella* possèdent des antigènes de structure lipopolysaccharidique appelés A et M inégalement répartis selon les espèces :

- L'antigène A, domine chez *Brucella abortus*;

- L'antigène M, domine chez *Brucella melitensis*;
- L'antigène M et l'antigène A, sont égaux chez *Brucella suis* [34].

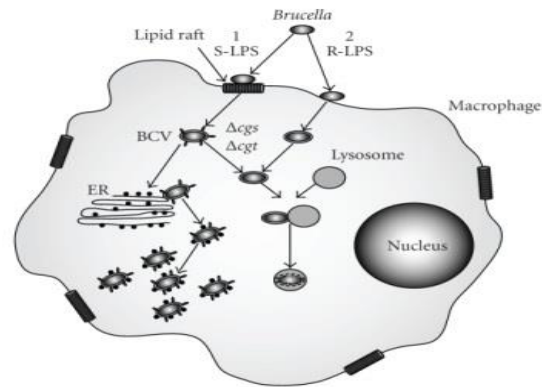
Les anticorps anti-brucella donnent des réactions croisées avec *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* et plus rarement avec *Escherichia coli* et certaines *Salmonella* [35]. Certaines *Brucella* se différencient également par leur lipopolysaccharide (LPS). En effet, chez les *Brucella*, il se présente sous deux formes.

- ❖ Une forme incomplète dépourvue de chaînes O, appelée LPS en phase R. Il est retrouvé chez *Brucella ovis* et *Brucella canis*. Leurs colonies présentent un aspect rugueux. Ces deux espèces possèdent un antigène R, responsable des réactions antigéniques croisées, notamment avec *Bordetella bronchiseptica* et certaines souches de *Pasteurella multocida*.
- ❖ Une forme complète avec des chaînes O, appelée LPS en phase S. Il est retrouvé chez *B. abortus*, *B. melitensis* et *B. suis*. Leurs colonies présentent alors un aspect lisse. Ces bactéries expriment des antigènes A et M responsables également de réactions croisées [36].

#### 4.3 Pathogénie

Le pouvoir pathogène de *Brucella* se définit par sa toxicité à travers le lipopolysaccharide (LPS) et son aptitude à se multiplier dans les cellules du système réticulo-endothélial, de l'appareil génital et mammaire ou articulaire [31]. Les *Brucella* pénètrent l'organisme par voie cutanée (la brucellose est reconnue comme maladie professionnelle), digestive (consommation de lait ou de fromages provenant d'animaux infectés) ou respiratoire et enfin les germes gagnent la voie lymphatique qui est le premier relai ganglionnaire. Elles se multiplient par voie lymphatique et sanguine (bactérienne). Ces germes sont phagocytés plus ou moins rapidement par les macrophages puis détruits avec libération d'antigènes et d'endotoxines. Ce sont des bactéries intracellulaires facultatifs du système réticulo histiocytaire (splénomégalie, hépatomégalie) [11,67].





**Figure 2:** L'interaction Brucella-macrophage [38].

Les cellules préférées infectées par *Brucella* sont les macrophages. Les souches de *Brucella* avec LPS lisse (S-LPS) pénètrent dans la cellule par interaction avec des radeaux lipidiques et sont ensuite englobés dans un compartiment lié à la membrane appelé vacuole contenant de la brucelle (BCV). Cette vacuole conserve quelques marqueurs de radeau lipidique, ciblant le BCV sur le réticulum endoplasmique (RE). *Brucella* fusionne avec le RE, acquérant ainsi des marqueurs pour éviter la fusion avec le lysosome avant de commencer à se répliquer.

Les souches de *Brucella* avec LPS rugueux ne pénètrent pas dans le macrophage par les radeaux lipidiques et sont rapidement ciblés et tués sur le lysosome. Les mutants de la voie de biosynthèse de C $\beta$ G ( $\Delta$ cgs et  $\Delta$ cgt) ne fusionnent pas avec le RE, mais sont dirigés vers le lysosome [38].

#### ❖ Mécanismes de l'avortement

Les *Brucella* se multiplient dans l'espace utéro-chorial, entraînant une placentite exsudative et nécrotique. Ces lésions provoquent un décollement utéro-chorial et des adhérences fibreuses entre placenta et utérus.

- Si ces lésions sont étendues, l'interruption des échanges nutritifs entre la mère et son fœtus se produit. Le fœtus meurt d'anoxie et il y a avortement. Des brèches peuvent également permettre le passage de *Brucella* dans la cavité amniotique. Les bactéries sont alors ingérées par le fœtus et provoquent une septicémie mortelle donc ce qui résulte l'avortement.

- Si les lésions sont limitées, l'infection placentaire est compatible avec la survie du fœtus. On peut alors observer la naissance à terme ou prématurée (l'expulsion du fœtus vivant peut être sous la dépendance de modifications hormonales, consécutives aux lésions placentaires) du produit [39].

Mais parfois, le nouveau-né souffre de lésions cérébrales d'origine hypoxique entraînant sa mort dans les 48 heures suivant sa naissance. Par ailleurs, les adhérences entre chorion et utérus provoquent des rétentions placentaires chez les femelles infectées [40].

#### 4.4 Structure génétique

Le génome de *Brucella* est réparti sur deux chromosomes circulaires, un grand chromosome de 2,1 Mb et un petit de 1,2 Mb (excepté pour *B. suis* biovar 3 qui ne possède qu'un chromosome de 3,2 Mb) [41]. L'ensemble du génome contient environ 3200 séquences codantes. Les génomes de *B. melitensis*, *B. suis* et *B. abortus* furent les premiers à être séquencés confirmant ainsi que ces espèces sont très proches [42]. Par exemple, les génomes de *B. melitensis* et *B. suis* ne diffèrent que par 74 gènes (42 sont uniques à *B. suis* et 32 à *B. melitensis*). Les génomes de *B. melitensis* et *B. abortus* diffèrent quant à eux majoritairement par la présence d'un locus de 25 kb chez *B. melitensis*. Ce locus semble être impliqué dans la synthèse de polysaccharide(s) [43].

##### 4.4.1 Gènes et protéines d'intérêt de l'étude

###### ❖ Gène *glk* de *B.abortus*

Le gène *glk* situé sur le chromosome 2 code pour la protéine glucokinase. Cette protéine joue un rôle très important dans le transport et le métabolisme des glucides. Elle facilite la phosphorylation du glucose au glucose-6-phosphate [44].

Le gène se situe entre les positions 18 et 23 sur le génome.



**Figure 3:** Position du gène *glk* de *Brucella abortus*.

###### ❖ Gène *Vdcc* de *Brucella spp.*

Le gène *vdcc* (voltage-dependent-calcium-channel) est situé sur le chromosome 2 et joue un rôle important dans l'activité carboxy-lyase de *Brucella* [30].

#### 4.5 Résistance

Dans les conditions normales, les *Brucella* sont sensibles à l'eau de javel, l'éthanol à 70°, au formaldéhyde (formol), au glutaraldéhyde et à l'action des rayons ultraviolets en milieu liquide [3]. Le genre *Brucella* offre une grande résistance à la température ordinaire et basse (4 à 21°C), mais est détruit par les rayons solaires et la pasteurisation (63°C - 30 minutes, 72°C - 15 secondes). Il est sensible aux désinfectants usuels (soude, hypochlorite), à de

nombreux antibiotiques(tétracyclines, aminoside, fluoroquinolone) [37] et au pH faible (détruits par les ferments lactiques) [31].

## 5. Transmission

La transmission verticale et la transmission horizontale sont toutes deux possibles. La transmission verticale peut se réaliser in utero ou lors du passage du nouveau-né dans la filière pelvienne. La transmission horizontale peut être directe et indirecte [8,85].

- Transmission directe : C'est par le contact avec l'animal atteint que l'homme se contamine. C'est le cas le plus fréquent et celui pour lequel le caractère professionnel de la maladie est le plus marqué. L'infestation se fait lors de la traite, lors de la manipulation de la litière des animaux, par contact avec les produits d'avortements (placenta) ou la viande d'animaux malades. La contamination est possible en laboratoire ou lors de la manipulation du vaccin vivant. La contamination se fait habituellement par voie transcutanée, elle est favorisée par les excoriations. La pénétration du germe par voie conjonctivale ou respiratoire est cependant possible [66,86].
- Transmission indirecte : Elle se fait par voie alimentaire le plus souvent. La pénétration du germe est bucco pharyngée. Le lait, le beurre, les fromages d'origine bovine ou ovine n'ayant subi ni fermentation, ni pasteurisation, en sont les principaux responsables. Ce rôle n'est cependant pas exclusif puisque des légumes consommés crus, les viandes insuffisamment cuites sont aussi des sources de contagion possible [36].

## 6. Symptômes

La brucellose est une maladie d'expression très polymorphe [3].

### 6.1 Chez l'homme

La période d'incubation est de 1 à 3 semaines mais peut s'étendre sur plusieurs mois. L'infection à *B. melitensis* se déroule généralement sous une forme aiguë, alors que celle causée par d'autres espèces sont subaiguës ou chroniques [3]. Les signes cliniques les plus fréquents sont : la fièvre ondulante associée à une hypersudation surtout nocturne, les douleurs articulaires et les douleurs dorsolombaires (fièvre ondulante sudoro-algique). La température peut dans certains cas varier de 37°C le matin à 40°C dans l'après-midi. D'autres symptômes comme le malaise, l'insomnie, l'anorexie, les maux de tête, la constipation, l'impuissance sexuelle, la nervosité, les frissons, la faiblesse et la dépression peuvent être associés [8,85,87].

#### ❖ Brucellose aiguë

### - **Formes inapparentes**

L'infection est totalement méconnue avant qu'un sérodiagnostic ne révèle l'existence d'anticorps spécifiques [36] et se manifeste classiquement sous forme de « fièvre ondulante sudoro-algique » (fièvre ondulante, sueurs abondantes, arthralgies/myalgies, fatigue, sensation de malaise, céphalées) ou de syndrome pseudo-grippal banal [48].

### - **Formes septicémiques**

Après une incubation de 2 à 3 semaines et un début insidieux, la maladie est marquée par de la fièvre, des sueurs profuses, une asthénie, un amaigrissement, des arthralgies et myalgies: c'est la classique fièvre ondulante sudoro-algique accompagnée d'hépatosplénomégalie et d'adénopathies [11,66]. A l'examen clinique on retrouve une splénomégalie modérée et un foie légèrement augmenté de volume. La palpation des aires ganglionnaires perçoit de discrètes adénopathies fermes et indolores de siège souvent cervical [11,89]. La leucopénie avec neutropénie est évocatrice mais c'est surtout l'isolement du germe dans les hémocultures, avant tout traitement antibiotique, qui apparait décisif [4]. On constate, malgré le tableau infectieux, une neutropénie. A ce stade et dans cette forme, l'hémoculture (ou la myéloculture) permet un isolement de la bactérie et les anticorps spécifiques apparaissent [36].

## ❖ **Brucellose subaiguë**

### - **Formes localisées**

Elles surviennent après la forme septicémique ou après une forme inapparente. Plusieurs localisations sont possibles mais ce sont surtout les os, les articulations qui sont atteints. Les manifestations ostéo-articulaires sont les plus typiques : spondylo-discite lombo-sacrée, sacro-iléite ou arthrites. Les autres troubles possibles sont des atteintes neuropsychiques, méningo-encéphaliques d'allure pseudo-tuberculeuse, uro-génitales (orchite), pulmonaires, hépatiques, spléniques ou cutanées. Des endocardites survenant sur valves lésées sont possibles [88,89].

## ❖ **Brucellose chronique**

La brucellose chronique regroupe, d'une part des rechutes ou réactivations (foyers secondaires osseux) rencontrées dans 10 % des cas, d'autre part des formes dites psychoneurologiques caractérisées par des symptômes chroniques de type fatigue ou dépression pour lesquelles le niveau de preuve du lien entre brucellose et les symptômes est faible [49].

### - **Formes à rechute ou d'évolution prolongée**

Les signes généraux et les atteintes locales persistent plus d'un an [50]. Les antibiotiques n'y font rien. Il est bien difficile de distinguer les rechutes des formes traînantes si le risque

professionnel de contamination persiste. Les hémocultures ou le sérodiagnostic sont souvent positifs.

#### - Formes psycho-neurologiques

C'est la "patraquerie brucellienne" donnant lieu à des céphalées, des malaises, une asthénie d'allure psychosomatique. Les hémocultures et le sérodiagnostic sont négatifs mais l'intradermo-réaction à la mélitine est positive et témoigne de l'étiologie brucellienne des troubles [36]. Si la brucellose tertiaire peut se constituer en l'absence de toute phase septicémique, elle est précédée le plus souvent de fièvre. Sa symptomatologie est dominée par l'asthénie physique, psychique voire génitale accompagnée de douleurs diffuses, de troubles neuro végétatifs, la sudation au moindre effort. Il s'agit d'une hypersensibilité retardée aux toxines secrétées par *Brucella* [4].

## 6.2 Chez l'animal

La maladie est généralement asymptomatique, les symptômes les plus courants concernent l'appareil génital. La symptomatologie est particulièrement fruste et les formes chroniques ou asymptomatiques sont plus fréquentes chez les bovins. En effet, le premier signe chez la femelle gravide est l'avortement sans dystocie [28]. Chez la vache, l'avortement est possible à n'importe quel stade de la gestation mais, intervient le plus souvent vers 6-7 mois quand la génisse a été infectée à la saillie ou au tout début de la gestation. La vache n'avorte en général qu'une fois (dans 80 % des cas), mais elle reste infectée et peut excréter les bactéries. La rétention placentaire et l'endométrite sont fréquentes après l'avortement [17]. Chez les petits ruminants, il semblerait que la brucellose même en l'absence d'avortements soit un facteur de stérilité chez la chèvre et la brebis. Chez les ovins, l'avortement ne survient qu'une seule fois et ils ont tendance à se débarrasser spontanément des *Brucella* plus facilement en produisant souvent l'auto-stérilisation dans un délai de 6 mois à 1 an en période de repos sexuel. Chez les caprins, les signes cliniques sont pauvres voire absents [17]. Les symptômes extra-génitaux sont rares chez les bovins, et sont associés à une évolution chronique. C'est une septicémie suivie de localisations viscérales secondaires diverses avec toutefois un tropisme génital marqué. Il s'agit donc d'une maladie de la reproduction :

- Chez le mâle : épидидymites, orchites, stérilité ;
- chez la femelle : localisations mammaires et utéroplacentaires [36].

## 7. Diagnostic

Le diagnostic de certitude de la brucellose est obtenu par l'isolement de la bactérie à partir d'un échantillon biologique du patient [51]. Selon la forme clinique l'isolement peut être

obtenu à partir d'une hémoculture, d'une ponction articulaire, de liquide céphalorachidien (LCR), de moelle osseuse, de la mise en culture de matériel articulaire après exérèse ou de la ponction de n'importe quel organe siège d'une infection focalisée [52]. Diverses méthodes sont disponibles pour réaliser le diagnostic sérologique : le test d'agglutination en tube (TAT) ou test de Wright (SAW), l'épreuve à l'antigène tamponné (EAT ou test au Rose Bengale (RB)), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et les techniques de type ELISA sont les plus fréquemment utilisées [87,93]. Ces tests sont utilisables pour le diagnostic d'infections dues à toutes les espèces de *Brucella* sauf *B. canis* [52]. Le diagnostic peut être réalisé par la technique de la PCR, sa spécificité est meilleure que les tests sérologiques en phase aiguë. En outre, elle apparaît plus sensible que la bactériologie conventionnelle sur la plupart des tissus [52].

#### ❖ Culture

Le diagnostic est réalisé par examen microscopique ou par culture en milieux sélectifs pour une identification du genre et l'espèce. Les échantillons les plus adéquats pour ce diagnostic sont la décharge vaginale, le poumon, le foie, le contenu abomasal du fœtus, le colostrum, l'avorton et le placenta [17]. Cette recherche a l'avantage de donner la preuve directe de la maladie en cas d'isolement [53]. L'isolement des *Brucella* en culture est la technique de référence pour établir un diagnostic certain de brucellose. La bactérie est le plus souvent isolée à partir du sang par hémoculture [17].

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. Les colonies apparaissent lisses, translucides, non hémolytiques, à bords réguliers [36].

Les conditions physiques optimales pour la croissance de *Brucella* sont :

- pH= 6,8
- Température optimale de 35°C
- Croissance favorisée par CO<sub>2</sub> 5 à 10 % (*Brucella abortus*).

La qualité des bouillons d'hémoculture est aujourd'hui largement bonne pour permettre leur culture dans des délais plus raisonnables. Une agitation de ces bouillons pour favoriser l'aérobiose est toutefois utile. Les *Brucella* nécessitent des milieux de culture adéquats, enrichis en thiamine, niacine et biotine. La gélose *Brucella* est recommandée pour la culture et l'isolement des *Brucella* [1].

Formule –type du milieu : [1]

Pour 1litre de milieu de base, on a :

Tryptone.....	10,0 g
Peptone pepsique de base de viande.....	10,0 g
Extrait auto lytique de levure.....	2,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Glucose.....	1,0 g
Bisulfite de sodium.....	0,1 g
Agar-agar bactériologique.....	15,0 g

#### ❖ Test de Fixation du Complément (TFC)

Le TFC met en évidence les anticorps fixant le complément non dirigé exclusivement contre le LPS bactérien. Il détecte les IgG1 et les IgM (plus ou moins éliminées selon les modalités de chauffage du sérum) [3].

#### ❖ Sérodiagnostic de Wright

C'est une réaction d'agglutination d'une suspension de *Brucella* à partir d'une dilution successive du sérum à étudier. Il met en évidence les IgM et IgG lors des brucelloses aiguës. La réaction se positive précocement, 10 à 15 jours après le début de la maladie et se négative en 6 à 12 mois. Des "faux positifs" sont possibles (réaction croisée avec *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae* ...) [54]. La possibilité de faux négatifs justifie la recherche systématique d'anticorps bloquants apparaissant chez certains malades, surtout en phase chronique ; ce sont des IgA ou IgG occupant les sites antigéniques sans provoquer d'agglutination. On ajoute au tube réactionnel une goutte de témoin positif, si l'agglutination ne se produit pas, c'est parce qu'elle est empêchée par les anticorps bloquants fixés sur les *Brucella* [1,95].

#### ❖ Epreuve de l'antigène tamponné (EAT) ou réaction au Rose Bengale

C'est une réaction d'agglutination sur lame utilisant une suspension en milieu acide et tamponné de *Brucella* inactivée et colorée par le Rose de Bengale. Elle met en évidence les IgG et se positive plus rapidement aux quatrième et cinquième jours persistant plusieurs mois. Elle est très sensible [54]. Son interprétation est similaire à celle de Wright mais la cinétique des anticorps est plus longue que celle du sérodiagnostic de Wright [1].

#### ❖ Diagnostic moléculaire

Depuis quelques années, l'utilisation de la technique de la PCR dans le diagnostic de la brucellose se multiplie [31]. C'est une technique d'identification des acides nucléiques par la Réaction de polymérase en chaîne. Son intérêt réside principalement dans le diagnostic aiguë en cas d'antibiothérapie empirique qui négative la culture et en cas de formes focalisées de brucellose, la sensibilité de la PCR se révélant supérieure à celle de la culture [36]. La difficulté majeure provient de la présence possible d'inhibiteurs de PCR et/ou d'une quantité importante d'ADN pouvant interférer sur la PCR selon l'origine des échantillons [31]. Pour la brucellose humaine, divers échantillons peuvent être utilisés pour la détection de *Brucella* : urine, liquide synovial, pus d'abcès, liquide cérébro-spinal, tissu osseux, etc. Mais, les deux principales matrices utilisées en PCR sont le sang et le sérum [39]. D'autres techniques moléculaires comme la RFLP, le Southern Blot récemment mises au point permettent également la détection et l'identification des espèces de *Brucella* et de leurs biovars [31].

#### ❖ Diagnostic différentiel

- **Chez l'Homme**

La brucellose doit être différenciée des autres affections fébriles telles que le paludisme ; la fièvre typhoïde ; polyarthrite rhumatoïde ; la yersiniose à *Yersinia enterocolitica* ; la tuberculose, etc...[8,85].

- **Chez l'animal**

Des avortements d'origine nutritionnelle (toxémie de gestation), infectieuse (chlamydiae, salmonellose, fièvre Q, listériose, campylobactériose, pestivirus ovine) et parasitaire (toxoplasmose). La présence d'une orchite-épididymite chez le bélier associé à des retours en chaleur chez les brebis, pourrait faire penser à une infection par *Brucella ovis*. Le diagnostic différentiel est établi sur la base des données anamnestiques, des particularités épidémiologiques, des signes cliniques et des résultats de laboratoires [3].

## 8. Traitement

Les *Brucella* sont sensibles in vitro à de nombreux antibiotiques sans oublier qu'il s'agit de bactéries intracellulaires facultatifs [1,101]. Il est donc nécessaire d'utiliser des antibiotiques à la fois actifs sur la bactérie et qui pénètrent dans les cellules : les tétracyclines et la rifampicine souvent associées à la streptomycine, au chloramphénicol et aux sulfamides [4]. Par exemple, l'OMS recommande rifampicine 600 mg/j et doxycycline 200 mg/j [37]. Les doses sont adaptées si le malade est une femme enceinte ou un jeune enfant. Le traitement dure environ 6 semaines pour la brucellose en phase septique. En phase focalisée, le



traitement dure de deux à quatre mois car la majorité des bactéries sont intracellulaires et donc difficiles d'accès. Enfin, pour la brucellose chronique, l'antibiothérapie est inutile car la bactérie est devenue inaccessible. Un traitement symptomatique de l'asthénie, des douleurs et éventuellement une désensibilisation est réalisé par antigéno-thérapie et une exérèse des foyers infectieux [36]. L'antibiothérapie avec une seule molécule ne doit pas être retenue car l'expérience clinique a permis de montrer que la prescription d'une monothérapie et/ou d'un traitement de courte durée s'accompagne d'un taux élevé d'échecs thérapeutiques et de rechutes à l'arrêt du traitement [25,67].

## 9. Prophylaxie

En Général, la lutte repose sur le traitement thermique des aliments, la protection des professionnels à risque, la vaccination du bétail, l'élimination des animaux infectés et le contrôle des mouvements d'animaux [61,87].

Recommandations de l'OMS :

- Éducation pour éviter de consommer du lait et des produits laitiers non pasteurisés
- Précautions mécaniques de protection pour les chasseurs et les professionnels soumis à risque (bouchers, éleveurs, personnes travaillant dans les abattoirs) ;
- Manipulation et élimination soigneuses des placentas, surtout dans les cas d'avortement ;
- Ventilation des étables et porcheries ;
- Tests sérologiques ou autres chez les animaux. On pourra envisager la vaccination des troupeaux et l'élimination des troupeaux infectés [56].

## Chapitre 2 : Toxoplasmose

### 1. Définition générale

La toxoplasmose est une protozoose cosmopolite fréquente due à *Toxoplasma gondii*. C'est une anthrozoonose très répandue dans le monde. Elle se rencontre chez les mammifères en particulier l'homme [57].

### 2. Historique

Le parasite est décrit pour la première fois en 1908 à l'Institut Pasteur de Tunis par deux médecins français, Charles Nicolle et Louis Herbert Manceaux, après une épidémie de laboratoire sur un rongeur sauvage d'Afrique du Nord, le *Ctenodactylus gundi* [58]. Ils isolèrent un protozoaire de forme arquée qu'ils nomment *Toxoplasma gondii*, « *Toxoplasma* » venant des mots grecs toxon, « arc », et plasma, « forme » [18,19]. Au même moment, l'Italien Alfonso Splendore trouve ce même parasite après la mort des lapins de son laboratoire à Sao Paulo au Brésil [60].

En 1923, Joseph Janku décèle le premier cas de kyste rétinien de *Toxoplasma gondii* d'un enfant hydrocéphale et décrit le parasite sous le nom de *Toxoplasma hominis* [61]. En 1937, Abner Wolf et David Gowen rapportent le premier cas de toxoplasmose congénitale humaine [62] et Sabin décrit la symptomatologie de la toxoplasmose humaine. En 1939, Sabin et Feldman mettent au point le Dye-test [63]. C'est un test immunologique précoce et sensible qui permet l'approche diagnostique de la toxoplasmose. En 1957, Goldman et Kelen mettent au point l'immunofluorescence indirecte (IFI) [23,24]. L'approche expérimentale de la maladie est réalisée :

- chez la souris en 1960 d'une part par Cowen et Wolf et d'autre part par Vander Way ;
- chez le chat par Remington en 1961 ;
- chez le cobaye par Huldten en 1960 et en 1963 par Giraud.

En 1965 Desmonts démontre le rôle de la viande dans la transmission humaine. En 1970, Hutchison démontre l'importance épidémiologique du chat et la reproduction sexuée de *Toxoplasma gondii* dans l'intestin grêle de cet animal [66].

### 3. Epidémiologie

La distribution de ce parasite est très large puisque globalement 30 % de la population mondiale est séropositive et plus de 200 espèces de mammifères et d'oiseaux sont touchées [5]. La répartition géographique de la toxoplasmose varie d'une région à l'autre [67]. D'une manière générale la prévalence est très basse en Asie du Sud-est, au Japon (4 à 14 %). Elle est

plus élevée au Moyen Orient, en Inde, en Indonésie et en Malaisie (20 à 30 %). Des études ont rapporté des prévalences inférieures à 30 % pour l'Australie, plus élevées en Nouvelle Zélande (25 à 60 %). La prévalence dans les atolls du pacifique peut être assez élevée (30 à 70 %).

L'Amérique du Nord et du Sud ont des profils épidémiologiques différents [68]. En Amérique du Nord, il existe des variations selon les régions : chez des femmes enceintes, 41 % de prévalence au Québec, 30 % à New York, 8 % dans l'Oregon et 5 % au Manitoba [12]. L'incidence de séroconversion est comprise entre 2 à 10 % des grossesses. Elle touche environ 5 % des enfants avant l'âge de cinq ans et 65 % des adultes après l'âge de quarante ans [68]. L'Amérique du Sud est un modèle de profil tropical. Les pays au climat chaud et sec ont une faible séroprévalence de la toxoplasmose (souvent inférieure à 10 %) [69]. Alors que les zones humides de cette région ont des prévalences élevées (par exemple : 59 % en Argentine). Le Brésil est caractéristique du profil tropical avec une séroprévalence de 72 %. A Rio Grande, l'incidence de la toxoplasmose congénitale varie de 0 à 10 % des naissances, en fonction des facteurs socio-économiques, culturels, ethniques et climatiques et en fonction du type de souche de. Dans la République haïtienne, l'exposition toxoplasmique humaine est élevée parce que parasite [61] la densité de population est forte, les conditions d'hygiène sont défectueuses et l'errance des chats est habituel [68].

En Europe, trois zones géographiques semblent se dégager : une zone scandinave et anglo-saxonne à faible prévalence (inférieure à 25 %), une zone franco-allemande à forte prévalence (40 à 70 %) et une zone méditerranéenne à prévalence modérée (20 à 50 %) [67]. L'incidence de la toxoplasmose congénitale est élevée pour les européens du Sud immigrant vers la Suède mais elle est faible pour les africains du Nord immigrant en France [68]. En France, la séroprévalence de la toxoplasmose dans la population est d'environ 50 à 60 %, et l'incidence de la toxoplasmose congénitale est de 1 à 2 pour 1000 naissances [69].

En Afrique La séroprévalence de la maladie varie en fonction de la géographie. Elle est particulièrement élevée dans les zones humides d'Afrique du Nord, centrale ou de l'Ouest (40 à 60 %). La prévalence devient basse (moins de 25 %) dans les zones désertiques, sahéliennes (Sénégal, Niger...) ou à forte présence anglo-saxonne (Afrique du Sud) [67].

**Tableau III:** Séroprévalence de la toxoplasmose chez les femmes en consultation prénatales dans quelques pays d'Afrique.

Pays		Prévalence	Références
<b>Afrique de l'Ouest</b>	Mali	34 % (1984)	[70]
	Cote d'Ivoire	60 % (2004)	[71]
	Benin	57,4 % (1998)	[72]
	Togo	53,6 % (1987)	[73]
	Sénégal	40,2 % (1998)	[43,44,45,46]
		24,1 % (2012)	
		32,9 % (2012)	
		50 % (2012)	
		43,8 % (2012)	
	Burkina Faso	29,1 % (2009)	[78]
31 % (2012)		[79]	
Nigeria	32,6 % (2011)	[80]	
<b>Afrique du Nord</b>	Maroc	50,6 % (2007)	[81]
	Tunisie	57 % (1997)	[82]
	Algérie	32 % (2007)	[83]
	Egypte	51,5 % (2009)	[84]
<b>Afrique Centrale</b>	Gabon	71,2 % (1998)	[85]
	Centre-Afrique	49,1 % (1999)	[86]
	Congo	60 % (1992)	[87]
	Cameroun	70 % (2011)	[88]
	Sao Tomé principe	75,2 % (2007)	[89]

Dans la population animale, la prévalence chez le chat est très variable suivant les pays et le mode d'habitation. Chez les chats domestiques, elle est de 10 % au Japon, Singapour et Taiwan contre 43 % en France, 71 % au Mexique et 80,6 % en Roumanie. Chez les félidés sauvages, Tenter a répertorié 17 espèces capables d'émettre des oocystes de *Toxoplasma gondii*. Les enquêtes menées donnent des prévalences comprises entre 9 % en Floride et 100 % en Grande Bretagne. La prévalence chez le mouton varie de 5,6 % en Afrique du Sud à 40

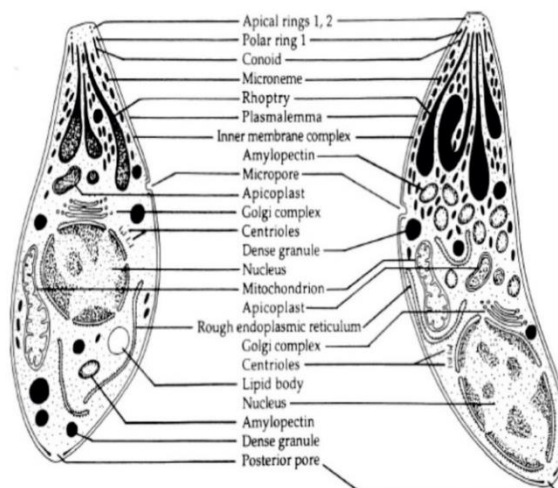
% en Côte d'Ivoire. Au Sénégal selon Deconinck, elle est de 11,5 % chez les ovins et 3,5 % chez les caprins [66].

#### 4. Agent pathogène

*Toxoplasma gondii* est un protozoaire de la classe des sporozoa, composé d'un noyau et d'un cytoplasme limité par une membrane. Le parasite est fragile, thermolabile et détruit par les sucs digestifs [67].

*Toxoplasma gondii* existe sous trois formes évolutives différentes :

- Une forme végétative appelée tachyzoïte ou trophozoïte ;
- Le bradyzoïte qui résulte du stade tachyzoïte au cours de son évolution chez l'hôte intermédiaire ;
- Le sporozoïte est le résultat de la reproduction sexuée qui a lieu dans les cellules de l'épithélium intestinal de l'hôte définitif [69].



**Figure 4:** Représentation d'un Tachyzoïte (à gauche) et d'un Bradyzoïte (à droite) de *Toxoplasma gondii* [90].

## ❖ Classification

**Tableau IV** : Classification systématique de *Toxoplasma gondii* [91].

<b>Règne</b>	Protistes (Protozoaires)
<b>Embranchement</b>	Apicomplexa
<b>Classe</b>	Coccidea
<b>Ordre</b>	Eimariida
<b>Famille</b>	Sarcocystidae
<b>Genre</b>	<i>Toxoplasma</i>
<b>Espèce</b>	<i>Toxoplasma gondii</i>

### 4.1 Structure biochimique

La structure biochimique de *Toxoplasma gondii* est très complexe, mais on peut retenir des protéines qui représentent les constituants majeurs des surfaces. Toutes ces molécules possèdent un même ancrage phospholipidique. Elles jouent un grand intérêt dans le diagnostic immunologique. Parmi ces protéines, la protéine 30 kd (P30) est la plus abondante des protéines totales de *Toxoplasma* [57].

### 4.2 Source du parasite

Les principales sources d'infestation pour les animaux sains sont les fèces des hôtes définitifs et les kystes de *Toxoplasma gondii* hébergés par les tissus musculaires des hôtes intermédiaires. La viande crue issue des mammifères et oiseaux hébergeant ces kystes, les végétaux et les eaux souillées par les oocystes constituent le plus souvent les sources d'infestation pour l'homme et les autres hôtes [66].

### 4.3 Structure génétique

Le génome de *Toxoplasma gondii* est composée de 14 chromosomes [92]. Il existe différentes souches de *Toxoplasma gondii* avec une structure génétique variable. Trois types (souches) génétiquement différents de *Toxoplasma gondii* sont connus : le type I, le type II et le type III. En raison de leurs différences génétiques, les trois types diffèrent également par le mode d'infection et la gravité des symptômes. Il n'existe que deux allèles à chaque locus et la distribution de ceux-ci entre les trois lignées indique que la majorité des souches existantes sont issues d'un seul événement de recombinaison et que depuis lors, elles ont subi un nombre limité d'activité de reproduction génétique dans l'environnement [92]. *Toxoplasma*

*gondii* contient une grande superfamille de gènes de surface qui code les andésines et les facteurs de virulence qui facilitent l'infection chez les hôtes sensibles. Le génome de *Toxoplasma gondii* comporte plusieurs familles de gènes distincts, des multi copies spécifiques aux coccidies [93].

### 4.3.1 Gènes et protéines d'intérêt de l'étude

#### ❖ Gène SAG 2

Les SAG (surface antigen) codent pour les protéines de surface qui jouent un rôle important dans l'invasion cellulaire de l'hôte, la modulation immunitaire et fournissent la protection au parasite pour sa survie dans l'environnement cellulaire [94].

### 4.3.2 Cycle du parasite

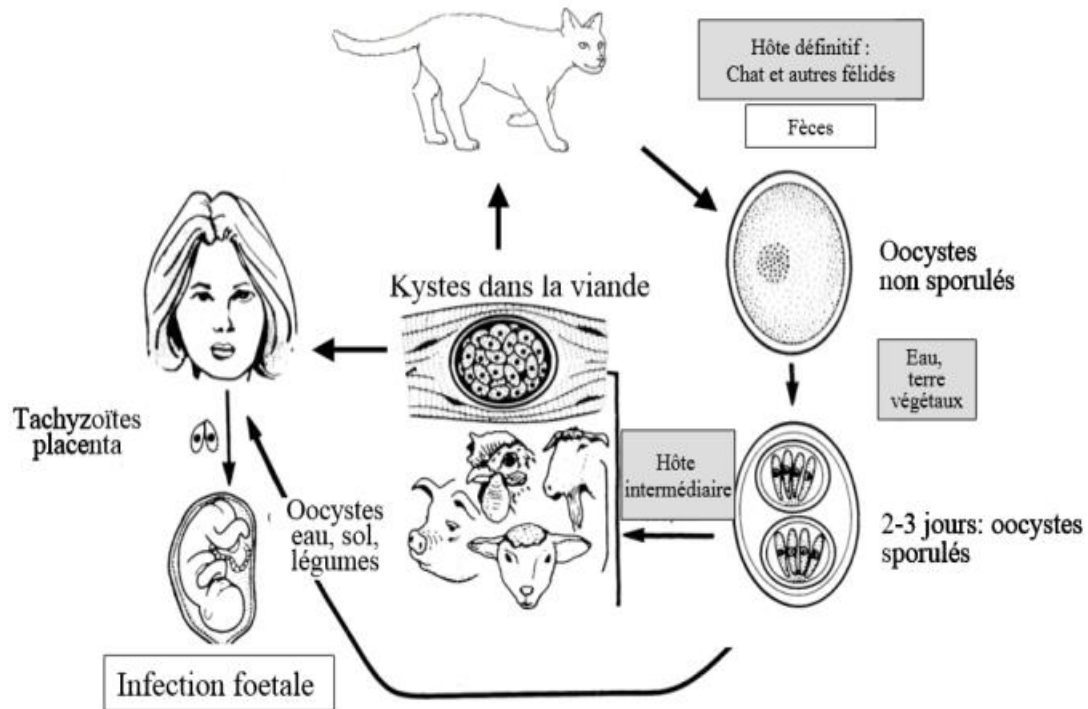
Le cycle naturel de *Toxoplasma gondii* est caractérisé par 2 phases de reproduction l'une sexuée et l'autre asexuée [95].

- La phase asexuée : schizogonique

Elle est représentée par les trophozoïtes et les kystes. Les trophozoïtes se disposent en amas ou en couronnes autour du noyau de la cellule hôte et se présentent sous forme de grains dans un cytoplasme rétracté. Les kystes renferment une cellule contenant des accumulations de quelques dizaines à plusieurs centaines de trophozoïtes, qui est ensuite distendue et détruite au fur et à mesure que les trophozoïtes se multiplient. La rupture des kystes se reproduit à l'occasion d'une baisse de l'immunité [67].

- La phase sexuée : sporogonique

Le cycle sexuel implique la schizogonie, la gamétogenèse et la fertilisation dans l'épithélium intestinal de félins [95]. Elle est importante pour la survie de l'espèce. Cette reproduction sexuée s'effectue essentiellement chez le chat qui se contamine en ingérant des animaux porteurs de kystes ou des végétaux souillés par d'autres oocystes [67].



**Figure 5** : Cycle biologique de *Toxoplasma gondii* [96].

Les chats, y compris les félinés sauvages, sont les seuls hôtes définitifs. Les félinés excrètent des oocystes *Toxoplasma gondii* dans leurs matières fécales. Les oocystes excrétés ne sont pas sporulés et ne sont donc pas infectieux. La sporulation (développement de sporozoïtes infectieux à l'intérieur de l'oocyste) peut prendre de 1 à 5 jours après la défécation et dépend des conditions environnementales. Les oocystes peuvent survivre plusieurs mois à un an dans des conditions environnementales extrêmes et résistent remarquablement à la plupart des désinfectants [96].

Après l'ingestion d'oocystes dans la nourriture ou dans l'eau par un animal à sang chaud, la paroi de l'oocyste se rompt dans l'intestin, libérant 8 sporozoïtes. Les sporozoïtes se multiplient par voie intracellulaire dans l'intestin et dans les ganglions lymphatiques associés, ensuite les tachyzoïtes (formes se multipliant rapidement) se forment. Les tachyzoïtes se propagent ensuite dans le reste de l'organisme à travers le sang et la lymphe, avant de s'enkyster dans le cerveau, les muscles squelettiques, cardiaques et le foie. Les formes de *Toxoplasma gondii* enkystés sont appelés bradyzoïtes ou cystozoïtes (formes à multiplication lente). Les kystes tissulaires sont microscopiques et survivent dans les tissus aussi longtemps que l'hôte vit [97].

Après ingestion de tissus infectés, les enzymes protéolytiques dissolvent la paroi du kyste en libérant des bicyclozoïtes qui infectent l'hôte. Après leur entrée dans les cellules hôtes, les



bradyzoïtes se transforment en tachyzoïtes. Dans la cellule hôte, les tachyzoïtes peuvent subir des divisions répétées, en fin de compte s'enkyster dans les tissus. Le cycle de *Toxoplasma gondii* est terminé lorsque le chat ingère des kystes tissulaires. Dans l'intestin du chat, les bradyzoïtes initient une série de générations asexuées génétiquement déterminées et les mérozoïtes initient le cycle sexuel. Une fois que le gamète mâle a fusionné avec le gamète femelle, un mur se forme autour du gamète femelle fécondé pour former l'oocyste [97].

L'infection transplacentaire peut survenir lorsqu'un hôte précédemment non infecté est infecté pendant la grossesse. *Toxoplasma gondii* se multiplie dans le placenta et se propage ensuite aux tissus fœtaux. Bien qu'une infection transplacentaire puisse survenir à n'importe quel stade de la grossesse, le fœtus est davantage touché si la femme est infectée au cours de la première moitié de la grossesse [98].

Bien que *Toxoplasma gondii* puisse être transmis par des transfusions de plaquettes et de cellules sanguines et par des greffes d'organes, ces modes de transmission sont moins courants que ceux transmis par la consommation de viande et les oocystes. Cependant, une toxoplasmose disséminée et souvent mortelle peut résulter d'une greffe d'organe, car les patients reçoivent des traitements immunosuppresseurs [97].

### 4.3.3 Physio-pathogénie de la toxoplasmose

- **Les trophozoïtes (tachyzoïtes)**

Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires qui sont capables d'envahir et de se multiplier rapidement dans les vacuoles cytoplasmiques de n'importe quelle cellule nucléée [67]. Présent chez l'hôte intermédiaire, le trophozoïte est piriforme, arqué, l'extrémité antérieure effilée et postérieure arrondie. Il mesure 5 à 10 µm de long pour 3 à 4 µm de large. Endocellulaire dans les macrophages, il a une multiplication rapide par endodyogenie [99]. Il se développe dans les cellules du système réticulohistiocytaire. Le tachyzoïte est entouré par une pellicule tri-membranaire constituée de plasmolème et le complexe membranaire interne. La paroi externe est rompue par endroit par le microspore [57]. Après plusieurs cycles de division intravasculaire par endodyogenèse, les formes proliférantes des trophozoïtes sont libérées de la cellule hôte et vont infecter les cellules adjacentes. Ils sont responsables de l'infection aiguë [67]. Le tachyzoïte se rencontre chez les animaux à sang chaud. Il est fragile, détruit par :

- Les anticorps circulants (raison pour laquelle il n'est présent que pendant la phase initiale de la maladie) ;
- L'acide chlorhydrique (HCl) ;

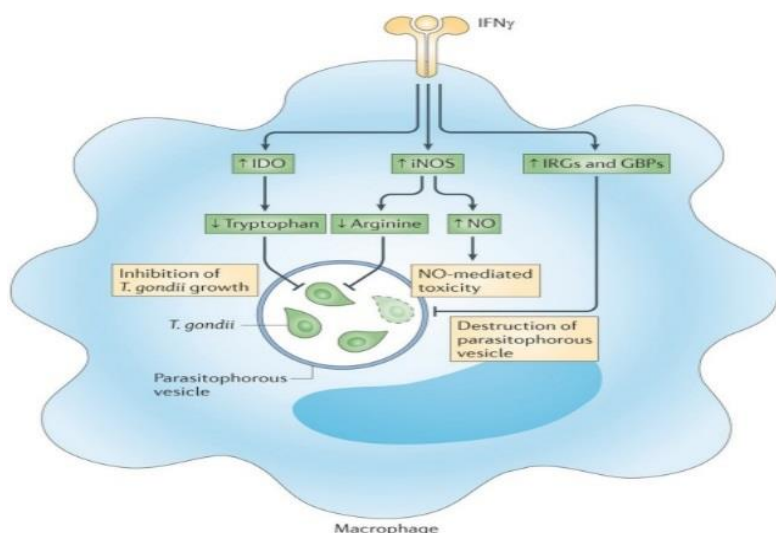
- L'acidité gastrique ;
- La haute température [57].

- **Les kystes**

Ils se développent dans le cytoplasme des cellules hôtes [57] et mesurent 10 à 200 micromètres de diamètre et contiennent des trophozoïtes vivants. Ces kystes peuvent se former dès la première semaine de l'infection. Ils persistent toute la vie chez les mammifères dans le muscle strié, le myocarde et le cerveau où ils vivent à l'état de quiescence [90]. Les kystes sont responsables d'infection latente et restent cliniquement silencieux chez un hôte immunologiquement compétent [90]. Par contre, ils deviennent une véritable source endogène de trophozoïtes chez les patients immunodéprimés [67]. Leur forme varie selon le siège : ils sont sphériques lorsqu'ils siègent dans le tissu nerveux et ovoïde dans le tissu musculaire [57]. Ils résistent aux anticorps circulants, à l'acidité gastrique mais sont détruits par la congélation continue et peuvent rester longtemps sans causer de dommage à l'organisme mais leur rupture peut entraîner des séquelles graves.

- **Les oocystes**

Ils sont de forme ovoïde mesurant 15 micromètres de long [57], 10 à 12 micromètres de diamètre [90]. Ils résultent exclusivement du cycle sexué et siègent dans la cellule de la muqueuse intestinale chez l'hôte définitif ayant ingéré soit des kystes contenus dans la viande peu cuite ou des oocystes rejetés par d'autres hôtes. Sa maturation s'effectue sur le sol donnant deux (2) sporocystes contenant 4 sporozoïtes chacun. Il constitue la forme de résistance du parasite et aussi la forme d'infestation [57]. Pour que les oocystes deviennent infestant ils doivent sporuler, phénomène dépendant de la température [90]. Les oocystes peuvent persister dans l'environnement et rester infestant pendant plus d'un an au moins si les conditions sont favorables (sol chaud et humide) [67]. L'oocyste est la seule forme de contamination pour les herbivores [57].



**Figure 6:** Interaction *Toxoplasma* - Macrophage

Les macrophages sont spécialisés dans la détection et la destruction des microbes intracellulaires. Pourtant, un certain nombre de pathogènes ont évolué pour exploiter cette niche hostile. Afin que les microbes intracellulaires puissent survivre dans les macrophages, elles se doivent de mettre en place des mécanismes inhibant l'activité microbicide de ces derniers [100]. Le parasite intracellulaire obligatoire *Toxoplasma gondii* désarme les mécanismes de clairance innée des macrophages en sécrétant une sérine thréonine kinase appelée ROP18, qui se lie aux phosphorylates et aux GTPases de l'immunité (IRG). Les IRG sont impliqués dans l'élimination de divers agents pathogènes intracellulaires. Le profilage du substrat de ROP18 a révélé une préférence pour un motif conservé dans la région de commutation I du domaine GTPase, une modification censée perturber la fonction IRG. En accord avec cela, l'expression de ROP18 est à la fois nécessaire et suffisante pour bloquer le recrutement d'Irgb6, qui est à son tour nécessaire pour la destruction du parasite. La phosphorylation des IRG par la ROP18 empêche la clairance des macrophages activés par l'IFN- $\gamma$ , conférant la survie du parasite *in vivo* et promouvoir sa virulence [101].

## 5. Transmission

La contamination se fait de façon horizontale par ingestion ou inhalation (absorption par voie respiratoire) de produits contaminés (viande, lait, eau), dans l'environnement ou alors de façon verticale par transmission transplacentaire à l'origine de la toxoplasmose congénitale [66]. Le risque d'une infection congénitale de toxoplasmose d'une femme enceinte avec la toxoplasmose primaire augmente de 0 % à 9 % dans le premier trimestre, 35 % à 59 % dans le troisième trimestre [98]. Le manque d'hygiène des mains, la consommation de crudités mal lavées et de viande crue ou mal cuite sont régulièrement décrits. Près de 30 à 63 % des

infestations à toxoplasmose durant la grossesse seraient dues à la consommation de produits carnés contaminés. L'hôte définitif est toujours un félin, par exemple le chat domestique, mais tous les vertébrés à sang chaud sont susceptibles de jouer le rôle d'hôtes intermédiaires y compris : les félins, la plupart des animaux d'élevage du bétail, le gibier et les humains [59]. En revanche, bien que le risque lié à la manipulation de la litière soit bien identifié, la possession d'un chat n'a pas été encore considérée comme un facteur de risque [66].

La contamination de l'homme s'effectue selon trois modalités principales :

- Transmission par absorption d'oocystes : cette contamination est essentiellement indirecte par consommation de fruits et légumes crus mal lavés ou d'eau de boisson contaminée et à cause d'une hygiène des mains insuffisante après contact avec le sol (jardinage) ou les animaux [91].
- Transmission par des kystes : la contamination se fait par consommation de viandes fumées, saumurées ou insuffisamment cuites (en particulier le mouton) [91], les kystes n'étant détruits qu'à une congélation inférieure à  $-12^{\circ}\text{C}$  pendant 3 jours au moins. Ce sont également les kystes qui sont impliqués dans la transmission par transplantation d'organe d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose vers un receveur négatif avant la greffe.
- Transmission par les tachyzoïtes : le tachyzoïte est une forme fragile, il est détruit dans le milieu extérieur et par le suc gastrique. C'est l'agent de la transmission transplacentaire, il est responsable de la toxoplasmose congénitale [98]. C'est également le tachyzoïte qui est responsable des exceptionnels cas de transmission par transfusion [98], possibles si le donneur était en pleine phase parasitémique d'une toxoplasmose [69].

## 6. Symptômes

### 6.1 Chez l'homme

Dans la toxoplasmose humaine, il existe plusieurs formes. Tout d'abord, la toxoplasmose aiguë, la forme dite congénitale, enfin il y a celle rencontrée chez l'immunodéprimé. Elle est grave, rapidement mortelle à cause de l'encéphalite [76,84].

#### ❖ Infection aiguë

Les symptômes sont une grosse fatigue, de la fièvre, l'augmentation du volume des ganglions du cou et de la nuque (adénopathies) et des douleurs dans les muscles dans 20 % des cas ; on peut penser à une mononucléose infectieuse ; le malade va guérir progressivement. Dans 80 % des cas il s'agit d'une forme inapparente car le patient n'a pas de

fièvre, mais seulement des ganglions du cou pendant une huitaine de jours, il ne s'en souviendra souvent pas [102].

#### ❖ **Formes congénitales**

Elle est observée surtout chez des femmes enceintes, car elle correspond à l'infection du fœtus lors de primo-infection de la femme pendant la grossesse. La gravité de la maladie est inversement proportionnelle au stade de la grossesse [98]. L'atteinte fœtale est plus grave lorsque les femmes sont infectées au début de la grossesse [98]. Si la transmission a lieu après la trentième semaine, les formes de la maladie sont moins graves. L'état clinique varie énormément [61]. Elle peut se manifester par des avortements (surtout en fin de grossesse), une rétention fœtale avec momification, de la mortinatalité (mort-nés ou jeunes morts très peu de temps après leur naissance avec dyspnée, fièvre, signes neurologiques), des lésions graves chez les nouveau-nés (hydrocéphalies, encéphalomyélites,...) [59]. Si la grossesse arrive à terme, il existe après la naissance la possibilité qu'un kyste cause la cécité, des troubles cardiaques ou cérébraux voire la mort de l'enfant.

La toxoplasmose congénitale grave entraîne des calcifications intracrâniennes caractéristiques, un crâne augmenté de volume, une dilatation ventriculaire, des perturbations neurologiques (convulsions, hypotonie) et des anomalies oculaires graves ("choriorétinite toxoplasmiques" sur la macula) pouvant rendre l'enfant quasiment aveugle [20,83]. Les formes les plus graves entraînent la mort du fœtus. La toxoplasmose viscérale, moins grave, atteint le foie et entraîne un ictère néo-natal associé parfois à des troubles hématologiques [8, 83].

#### ❖ **Toxoplasmose du sujet immunodéprimé**

La localisation la plus fréquente est cérébrale [102]. La symptomatologie associe des céphalées persistantes, une fièvre dans 50 % des cas et secondairement un déficit focalisé en rapport avec la localisation du ou des abcès [69]. La seconde localisation la plus fréquente est oculaire. Le patient se plaint d'une baisse d'acuité visuelle, d'impression de « mouches volantes » et d'une rougeur oculaire. Le diagnostic est ophtalmologique. Au cours de l'infection par le VIH une localisation cérébrale est associée dans 40 % des cas [69]. La toxoplasmose pulmonaire se traduit par une pneumopathie fébrile dyspnéisante évoquant la pneumocystose [69].

## **6.2 Chez les animaux**

Les symptômes de la toxoplasmose sont le plus souvent inapparents et peu caractéristiques sauf chez des animaux très jeunes ou ayant une immunité faible. Ainsi, chez la plupart des

animaux, la maladie se manifeste sous deux formes: la forme acquise et la forme congénitale. La forme acquise se localise surtout au niveau des appareils respiratoire (bronchopneumonie) et digestif (gastro-entérite). Le système nerveux, les organes locomoteurs et surtout les muscles sont également affectés. La forme congénitale correspond à l'infection du fœtus durant la gestation. [8,82].

## 7. Diagnostic

### ❖ Diagnostic Indirecte

Le code de nomenclature des actes de biologie médicale (arrêté du 3 avril 1986) impose la recherche systématique des IgG et des IgM pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose en France [69]. Pour les IgG la technique de référence reste le Dye Test ; en routine les techniques les plus utilisées sont les techniques immuno-enzymatiques dont l'ELISA, l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'agglutination sensibilisée. Le résultat est exprimé en unités internationales par millilitre (UI/ml). Pour les IgM, l'IFI classique (Test de Remington) est aujourd'hui remplacée par des méthodes basées sur le principe de l'immunocapture, la technique de référence étant l'immunocapture-agglutination, plus connue sous le nom d'ISAgA, acronyme formé à partir de l'anglais "Immuno-Sorbent Agglutination Assay." Le résultat est exprimé sous forme d'un index [69].

#### • Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence permet de mettre en évidence des IgM antitoxoplasmiques témoins d'une atteinte récente par l'utilisation d'un conjugué fluorescent spécifique anti-IgM (test de Remington) [103]. Elle se fait à partir de frottis sur lequel un colorant : l'iso cyanate de fluorescéine est recouvert par du sérum à différentes dilutions. Après un temps de contact suffisant, les frottis rincés sont recouverts de sérum anti globuline fluorescent. Les *Toxoplasma* présentent une intense fluorescence si la réaction est positive sous UV (la fluorescence est localisée sur la membrane parasitaire). A cause du problème de fluorescence non spécifique, on a recours à une contre coloration par le bleu d'Evans. Malheureusement, l'interprétation reste toujours délicate et entachée d'erreurs [101,102].

#### • Test ELISA (Enzyme linked immuno-sorbent Assay)

Dans cette méthode, l'antigène (cytoplasmique et membranaire) est fixé au fond des cupules des plaques en polystyrène utilisés en micro titration, le sérum suspect est ajouté, puis l'excès éliminé par lavage. Un sérum anti-immunoglobuline spécifique marqué à la phosphatase ou la peroxydase est ensuite introduit dans la réaction, les anticorps anti-immunoglobulines se fixeront sur les anticorps spécifiques éventuellement retenus par

l'antigène. L'enzyme est alors révélée par un substrat qui donne une coloration dont l'intensité est fonction de la positivité du sérum étudié [103].

- **ISAGA (Immuno Sorbent Agglutination Assay)**

C'est une méthode utilisant des *Toxoplasma* entiers comme réactif. Elle repose sur le principe d'immunocapture préalable des anticorps IgM du sérum sur des plaques de micro titration sensibilisées avec des anticorps anti-IgM. L'addition d'une suspension de *Toxoplasma* entraîne ensuite une agglutination en voile des parasites sur ces anticorps. En l'absence d'IgM anti-toxoplasma, les parasites sédimentent en bouton au fond de la cupule. C'est la taille du voile d'agglutination qui est mesurée [105]. En cas de positivité, les parasites sont uniformément répartis sous forme de voile tapissant le fond de la cupule réactionnelle. Très sensible, il permet de détecter précocement la présence des IgM anti-toxoplasme [106].

- **Dye test (Sabin et Feldman)**

Il est fondé sur la lyse des *Toxoplasma* vivants obtenus à partir du liquide péritonéal de souris infectées par les anticorps en présence de complément humain frais. La lecture se fait au microscope en contraste de phase. Longtemps considéré comme référence, ce test est lourd et coûteux et n'est pratiqué que par des laboratoires très spécialisés [22,99].

❖ **Diagnostic direct**

De nombreux tests existent tels que la coprologie, l'histologie, l'inoculation aux souris, la culture cellulaire, la biologie moléculaire notamment la réaction en chaîne par polymérase (PCR).

- **Réaction en chaîne par polymérase (PCR)**

La mise en évidence par la technique de la PCR de l'ADN de *Toxoplasma* a amélioré le diagnostic de cette pathologie. En effet, la détection de l'ADN n'est pas tributaire du statut immunitaire du patient, elle peut être appliquée sur des prélèvements variés (sang total, sérum, liquide céphalorachidien, lavage broncho alvéolaire, liquide amniotique etc.) et permet une réponse diagnostic rapide. Le premier protocole de PCR pour la détection de *Toxoplasma* a été publié en 1989 par Burg *et al.* [107]. Depuis, de nombreuses équipes ont mis en place des protocoles de PCR détectant différentes séquences cibles de l'ADN du parasite [108]. Ainsi le développement de la PCR en temps réel (Real-time PCR), permet de quantifier l'ADN et donc la charge parasitaire [108]. Elle est par exemple utilisée dans le diagnostic étiologique des avortements chez les ovins et les bovins [7]. La détection de *Toxoplasma gondii* par la technique de « Polymérase Chaîne Réaction » (PCR) est une technique basée sur l'amplification d'une séquence répétitive du gène B1, d'une séquence répétitive du gène

codant pour la petite sous unité de l'ARN ribosomal ou d'une partie d'un gène codant pour la protéine majeure de surface de *Toxoplasma gondii*, protéine P30 [67].

## 8. Traitement

Il existe peu de médicaments indiqués, et validés, pour le traitement de la toxoplasmose. Il s'agit principalement de :

- La spiramycine (Rovamycine®)
- L'association pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®)
- L'association pyriméthamine-sulfadiazine (Malocide®-Adiazine®) [84,102].

### - **Toxoplasmose acquise post-natale du sujet immunocompétent**

La toxoplasmose acquise postnatale du sujet immunocompétent guérit le plus souvent sans traitement. En cas d'asthénie importante le traitement classique associe la spiramycine (Rovamycine®, 1,5 MUI/10 kg par jour en pédiatrie, 6 à 9 MUI par jour chez l'adulte) à l'acide ascorbique (1 g/j) pendant un mois. L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole est certainement plus efficace mais il y a peu de données bibliographiques dans cette indication [69].

### - **Toxoplasmose du sujet immunodéprimé**

Le traitement d'attaque de référence est l'association pyriméthamine (Malocide®, 50 à 75 mg/j, après une dose de charge de 100 mg le premier jour) et sulfadiazine (Adiazine®, 4 à 6 g/j). L'alternative à la sulfadiazine, en cas d'intolérance, est la clindamycine (2,4 g/j). L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (10-50 mg/kg, 15-75 mg/kg IV la première semaine en cas de trouble de conscience), quel que soit le traitement choisi, il sera maintenu en attaque pendant 3 à 6 semaines avec une prescription systématique d'acide folinique 25 mg/j pour en prévenir les effets secondaires hématologiques [37,38].

### - **Toxoplasmose congénitale**

En cas de séroconversion en cours de la grossesse, il faut prescrire chez la femme un traitement par spiramycine 9 millions d'unités/j, instaurer une surveillance échographique et programmer l'amniocentèse. Si le diagnostic anténatal est positif la femme sera traitée par une association pyriméthamine-sulfadiazine aux mêmes posologies que l'immunodéprimé, en continu, jusqu'à l'accouchement. Pour réduire le nombre de prises médicamenteuses on peut prescrire l'association pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar®) à la posologie de 1 cp/20kg tous les 10 jours. Dans tous les cas il ne faut pas omettre d'associer l'acide folinique. L'interruption thérapeutique de la grossesse n'est justifiée qu'en cas d'anomalie échographique [37,38,83].



- **A la naissance**

Si l'infection du nouveau-né n'est pas prouvée, aucun traitement n'est prescrit pendant la durée du suivi clinique et sérologique. En cas de toxoplasmose congénitale (clinique et/ou sérologique) un traitement par Fansidar® ou Malocide®-Adiazine® sera instauré pour un an [37,38].

## **9. Prophylaxie**

### **❖ Prophylaxie sanitaire**

Les mesures prophylactiques doivent être appliquées à tous les acteurs du cycle biologique du parasite et au milieu extérieur. Ces mesures consistent, entre autres, à :

- Empêcher l'accès des bâtiments et des réserves de céréales aux chats et portez des gants avant de manipuler la litière de chat qui doit être mis dans les fosses d'aisance ;
- Se laver les mains après jardinage ou toute manipulation de viande fraîche ;
- Consommer de l'eau propre et du lait pasteurisé ;
- Bien cuire la viande avant la consommation ;
- Bien laver les fruits et légumes consommés crus avant de les consommer ;
- Ne pas laisser les placentas des femelles ayant avortés à la portée des autres femelles ;
- Conserver les brebis qui auront été infectées par la maladie car elles sont immunisées [13,76].

### **❖ Prophylaxie médicale**

Un vaccin vivant atténué est commercialisé pour le mouton [91]. Son efficacité porte essentiellement sur la prévention des avortements dus à la toxoplasmose. A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccin humain. Actuellement, les mesures de prévention primaire représentent l'unique mode de protection des femmes enceintes réceptives à la toxoplasmose (séronégatives). Chez les patients immunodéprimés et séropositifs à la toxoplasmose, la prévention des réactivations par chimio prophylaxie (cotrimoxazole) est largement appliquée et est efficace [103].

# METHODOLOGIE

### 3. Méthodologie

#### 3.1. Cadre et type de l'étude

La présente étude était transversale qui s'est déroulée au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA) d'avril 2018 à octobre 2018. Elle a concerné 280 échantillons qui ont été collectés au Centre National d'Appui et de lutte contre la Maladie (CNAM) durant la période d'octobre 2015 à janvier 2016 lors d'une étude préliminaire des zoonoses négligées au Mali.

##### ➤ **Lieu et période de l'étude**

L'étude s'est déroulée dans la ville de Bamako, précisément au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA) d'avril 2018 à octobre 2018.

Bamako est la capitale et la plus grande ville du Mali. L'accroissement démographique de Bamako est impressionnant, soit 2 500 habitants en 1884, 8 000 habitants en 1908, 37 000 habitants en 1945, près de 100 000 en 1960 lors de l'indépendance du Mali, l'agglomération compte 1 809 106 habitants en 2009 [110] et continue d'attirer une population rurale en quête de travail. Ainsi la ville comptait 2 309 106 habitants en 2012 [111]. Cette population est passée à 4 347 997 habitants en 2017 [112]

<https://www.populationdata.net/pays/mali/>.

Cet accroissement incontrôlé entraîne des difficultés importantes en termes de pollution et surtout d'hygiène (accès à l'eau potable, assainissement).

Le CNAM est situé dans la commune IV du District de Bamako, précisément à Para Djicoroni rue Raoul Follereau. C'est un Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST) rattaché au secrétariat général du Ministère de la Santé, créé par l'ordonnance N°036 du 15 Août 2001, ratifiée par la loi N° 02-009 du 04 Mars 2002 en lieu et place de l'Institut Marchoux après la disparition de l'Organisation pour la Coopération et la Coordination dans la lutte contre les Grandes Endémies (OCCGE). Ses missions principales sont : la Formation Médicale Continue (FMC), la recherche opérationnelle et vaccinologique, l'appui au programme de lutte contre la maladie. Son domaine d'action couvre la lèpre, la dermatologie, les infections sexuellement transmissibles et le SIDA (IST/SIDA), la tuberculose, le paludisme et les autres maladies endémo-épidémiques [113].

A cet effet, il est chargé de :

- Promouvoir la recherche médicale opérationnelle sur les maladies endémo-épidémiques ;
- Maintenir et renforcer les acquis scientifiques en matière de formation sur la lèpre, le paludisme, la tuberculose, le VIH - sida, l'onchocercose, la trypanosomiase et autres maladies apparentées ;

- Développer et maintenir une capacité nationale de surveillance épidémiologique des infections sexuellement transmissibles (IST) et des maladies à potentiels épidémiques ; endémiques et de mesurer leur impact sur l'état de santé de la population ;
- Promouvoir la coopération nationale et internationale dans le domaine de la lutte contre la maladie ;
- Développer une capacité en matière de vaccinologie ;
- Participer à la formation universitaire des étudiants et stagiaires.

[http://mail.cnom.sante.gov.ml/index.php?option=com\\_content&task=view&id=225&Itemid=89](http://mail.cnom.sante.gov.ml/index.php?option=com_content&task=view&id=225&Itemid=89).

Le laboratoire de biologie moléculaire appliquée (LBMA) est une structure de recherche publique à caractère académique affiliée à la faculté des sciences et techniques de l'université de Bamako et la faculté de pharmacie, la faculté de médecine et d'odontostomatologie. C'est une structure de pointe qui travaille sur les outils de biologie moléculaire et de la biotechnologie dans le domaine des productions végétales et animales.

Les missions du LBMA sont principalement de :

- Promouvoir les recherches et la lutte contre le Paludisme et le VIH-SIDA à partir des outils de biologie moléculaire ;
- Promouvoir les recherches et l'application de la biotechnologie dans le domaine des productions végétales et animales ;
- Contribuer à la modernisation de la formation universitaire à travers la biologie moléculaire. Domaine d'intervention du laboratoire ;
- Contribuer à la surveillance des maladies zoonotiques.

Les principaux domaines d'intervention du laboratoire sont : la biotechnologie médicale et la biotechnologie végétale et animale. Doté de grandes capacités, le LBMA mène des activités de recherche en collaboration avec Tulane University pour le développement de médicament antipaludique, Le laboratoire Central Vétérinaire (LCV) pour le contrôle de nouveau foyer de Glossines et la surveillance des maladies zoonotiques, Le GAIA (Global Alliance To Immunize Against) pour le développement d'un vaccin contre le VIH [114]. Le laboratoire abrite plusieurs unités : parasitologie, virologie, biotechnologie animale et végétale, biologie clinique, séquençage, zoonose, entomologie et génomique.

### **3.2 Critères d'inclusion et de non inclusion de l'étude**

#### **❖ Critères d'inclusion**

Ont été inclus dans cette étude tous les échantillons dont au moins l'un des prélèvements suivants : sérum, cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) ou culot globulaire était disponibles au LBMA.

### ❖ Critères de non inclusion

Tous les échantillons dont au moins l'un des prélèvements suivants : sérum, cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) ou culot globulaire était disponibles au LBMA, n'ont pas été inclus dans l'étude.

### 3.3 Aspects bioéthiques

L'autorisation des responsables du LBMA a été obtenue pour la réalisation de cette étude. L'autorisation des responsables du projet a été obtenue. L'assentiment de chaque patient inclus dans l'étude ainsi que l'assentiment des parents pour les non majeurs ont été obtenus pendant des collectes au CNAM durant la période d'octobre 2015 à janvier 2016. L'anonymat et la confidentialité des patient ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique.

### 3.4 Echantillonnage

L'étude concernait 280 patients (homme et femme) sans distinction d'âge venus en consultation au Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM) d'octobre 2015 à janvier 2016.

### 3.5 Méthodologie au Laboratoire

#### 3.5.1 Prélèvements : ils ont été réalisés au CNAM.

Les échantillons de sang ont été prélevés dans des tubes EDTA et tubes secs.

Le prélèvement s'est déroulé selon la procédure suivante :

- Hygiène des mains ;
- Friction hydro-alcoolique des mains et mettre les gants ;
- Identifier le patient et l'installer ;
- Choisir le bon côté ;
- Positionner l'avant- bras ;
- Poser le garrot : localiser une veine de bonne taille et poser le garrot environ 5 largeurs de doigts au-dessus du site de ponction ;
- Rechercher la veine ;
- Palper la veine ;
- Déterminer le point de ponction ;
- Mémoriser les repères servant à retrouver le point de ponction ;
- Imbiber d'antiseptique les tampons ;
- Demander au patient de fermer le poing ;

- Désinfecter le site de ponction : Appliquer l'antiseptique avec le tampon à partir du centre du site de ponction avec un mouvement circulaire vers l'extérieur sur une surface de 2 cm et laisser sécher ;
- Préparer le matériel de ponction veineuse selon les indications du fabricant ;
- Immobiliser la veine : immobiliser la veine en tenant le bras du patient et en retirant légèrement la peau avec le pouce placé au-dessous et latéralement à l'axe de la ponction ;
- Ponctionner la veine : avant de ponctionner la veine, positionner le biseau de l'aiguille vers le haut. Introduire l'aiguille dans la veine avec un angle de 30° ou moins. Ensuite remonter l'aiguille dans l'axe et le plan de la veine au moins 1 cm ;
- Prélever le sang ;
- Retirer le(s) tube(s) ;
- Homogénéiser les tubes par 3 retournements ;
- Desserrer le garrot, placer une compresse et retirer l'aiguille ;
- Eliminer directement l'aiguille dans la boîte de sécurité ;
- Appliquer un pansement sec ;
- Oter les gants et réaliser la friction alcoolique des mains.

Les échantillons de sang ont été transportés au LBMA pour l'analyse moléculaire.

### **3.5.2 Tests sérologiques : Ils ont été réalisés au CNAM.**

Les tests sérologiques ont été effectués au CNAM en utilisant le kit **Toxo Screen DA** de Bio Mérieux et le test **Rose Bengale** de Bio Mérieux.

### **3.5.3 Tests moléculaires : Ils ont été réalisés au LBMA.**

#### **➤ Préparation des solutions de travail**

- **NaCl 5M**

Dissolvez 292,2 g de NaCl dans 800 mL d'eau. Ajustez le volume à 1 litre avec l'eau.

- **PBS 1X**

Pour préparer 1000 mL de PBS 1X :

**Tableau V:** Composition du PBS

Concentration et réactifs	Quantité
137 mM NaCl	8,0 g/L
2,7 mM KCl	0,2 g/L
10 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,44 g/L
1,76 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,24 g/L

**- Tris HCl**

1. Dissoudre 121,14 g de Tris dans 800 mL d'eau ;
2. Ajuster le pH à 7,0 avec le volume approprié de HCl concentré. Amener le volume final à 1 litre avec de l'eau désionisée ;
3. Stériliser à l'autoclave et conserver à la température ambiante.

**- 0,5M EDTA**

1. Mélanger 186,1 g d'éthylènediamine tétra acétate disodique dans 800 mL d'eau distillée ;
2. Agiter la solution vigoureusement en utilisant un agitateur magnétique ;
3. Ajouter une solution de NaOH pour ajuster le pH à 8,0. Si vous utilisez des pastilles de NaOH solides, vous aurez besoin de 18 à 20 grammes de NaOH. Ajoutez le dernier de NaOH lentement afin de ne pas dépasser le pH. Vous voudrez peut-être passer de NaOH solide à une solution vers la fin pour un contrôle plus précis. L'EDTA entrera lentement dans la solution lorsque le pH se rapprochera de 8,0 ;
4. Diluer la solution à 1 L avec de l'eau distillée ;
5. Filtrer la solution à travers un filtre de 0,5 micron ;
6. Stériliser à l'autoclave et conserver à la température ambiante.

➤ **Séparation des cellules mononuclées du sang périphérique**

❖ **Principe**

Il s'agit de séparer les éléments du sang en utilisant un gradient de densité.

❖ **Procédure**

En vue d'extraire l'ADN, nous avons procédé d'abord à la séparation des cellules mononuclées du sang périphérique en mélangeant bien le sang dans le tube EDTA. Environ 2 ml de Ficoll ont été mis dans un tube de 15 mL (tube Falcon) ensuite 1 ml de sang total a été ajouté doucement aux 2 mL du Ficoll. Le mélange a été centrifugé à 1500 tours/minute

pendant 30 minutes (Centrifugeuse de type Eppendorf). A l'aide d'une pipette de transfert, la couche cellulaire entre le plasma et le culot globulaire a été prélevée. La couche leucocytaire est mise dans un tube de 15 mL de type Falcon et ensuite une série de lavage est faite avec du PBS (1 X) en centrifugeant à 1500 tours/mn et cela 2 fois. A la fin, le culot leucocytaire est suspendu avec 500 µl du PBS 1 X et ensuite conservé à -20 °C.

### ➤ **Extraction de l'ADN à partir des cellules mononuclées du sang périphérique**

L'ADN a été extrait des échantillons avec le kit **Qiagen mini Blood** et par la méthode **Salting out**. La dernière méthode a été utilisée pour extraire l'ADN de la majorité des échantillons.

#### ❖ **Principe de la méthode Salting out**

Il s'agit d'une déshydratation suivie d'une précipitation des protéines par une solution de chlorure de sodium saturée. Après précipitation des protéines, l'ADN est précipité par de l'éthanol puis élué.

#### ❖ **Procédure de la méthode Salting out** : toutes les étapes se sont déroulées à la température ambiante.

Avec 1 mL de solution de lyse dans un tube de 1,5 mL, nous avons ajouté de 500 µl de l'échantillon et mélangé vigoureusement au vortex puis centrifuger à 13000 rpm pendant 1 min. Le surnageant du mélange est jeté avant d'ajouter 1 mL d'eau distillée stérile, ensuite le tout est mélangé au vortex ensuite centrifugé à 13000 rpm pendant 1 minute, le surnageant est jeté. Ensuite 370 µl du mix (80 µl de Buffer PK 5X, 30 µl du PK (Protéinase K), 20 µl de SDS 20 % et 240 µl d'eau distillée stérile) est ajouté dans le tube, le mélange est après mélangé au vortex puis incubé à 55 °C pendant 15 minutes avant d'y ajouter 200 µl de NaCl 5 M, puis le mélange est mélangé au vortex puis centrifugé à 13000 rpm pendant 5 minutes. Transférer 500 µl du surnageant dans un nouveau tube stérile puis ajouter 1 mL d'éthanol absolue, mélanger est délicatement agité à la main ensuite centrifuger à 13000 rpm pendant 1 minute.

Jeter le surnageant et resuspendre le culot avec 800 µl d'éthanol frais à 70 %, mélanger au vortex puis centrifuger à 13000 rpm pendant 1 minute. Jeter le surnageant et reprendre cette opération 1 fois. Le tube est égoutté sur du papier absorbant, puis incubé à boucher ouvert pendant au moins 2 heures. Enfin ajouter 70 µl de TE (Tampon d'Elution) ou d'eau ultra pure,



passer le mélange au vortex et incubé pendant 2 minutes, si l'ADN n'est pas utilisé immédiatement le conserver à -20 °C.

#### ❖ **Conservations des échantillons**

Les solutions de cellules mononuclées du sang ainsi que les culots globulaires, les plasmas et les extraits d'ADN ont été conservés à -20 °C. Les sérums ont été conservés à -70 °C.

#### ➤ **Quantification de l'ADN**

Cette quantification a été faite par spectrophotométrie.

#### ❖ **Principe**

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative et qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

#### ❖ **Procédure**

Choisir la cuve correspondante avant d'allumer le spectrophotomètre. Ensuite préciser le paramètre à mesurer en appuyant sur le bouton correspondant au numéro du paramètre (ADN, ARN, Protéines...), puis entrer le facteur de dilution. Ensuite nettoyer la cuve avec de l'eau distillée avant de faire la mesure à blanc c'est-à-dire, dosé la densité de l'eau pour s'assurer du blanc de l'appareil. Si le blanc est correct passer à la mesure de l'échantillon. Enfin diluer l'échantillon avec de l'eau distillée dans la cuve avant de la placer dans l'appareil et mesurer en appuyant sur le bouton **échantillon** et noter le résultat (la concentration en ADN, le rapport de pureté).

#### ➤ **Réalisation de la PCR**

***Toxoplasma gondi* SAG 2** : Les séquences spécifiques de ces gènes ont été utilisées pour l'identification de la toxoplasmose.

Les *SAG* sont des gènes qui codent pour des protéines de surface du parasite. Ces protéines jouent un rôle important dans l'invasion cellulaire de l'hôte, la modulation immunitaire et fournissent la protection au parasite pour sa survie dans l'environnement cellulaire.



**Figure 7:** Taille attendue du gène *SAG 2*.

**Les gènes de *Brucella* :** Les séquences spécifiques de ce gène ont été utilisées pour l'identification moléculaire de la brucellose.

Chez *B.abortus*, le gène *glk* code pour la protéine glucokinase. Cette protéine joue un rôle très important dans le transport et le métabolisme des glucides. Elle facilite la phosphorylation du glucose au glucose6phosphate.



**Figure 8:** Taille attendue du gène *glk*

Quant au gène *vdcc* (voltage-dependent-calcium-channel) il est situé sur le chromosome 2 et joue un rôle important dans l'activité carboxy-lyase de *Brucella*.



**Figure 9:** Taille attendue du gène *vdcc*.

#### ❖ Procédure

La PCR a été conduite suivant le protocole modifié de Piranfar *et al.* (2015) pour la brucellose et Khan *et al.* (2005) pour la toxoplasmose. La PCR pour l'identification de la toxoplasmose a été conduite séparément de celle d'identification de la brucellose. Un volume total de 25 µl a été utilisé avec 25 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 mM de dinucleotide triphosphate (dNTPs), 10 µM de chaque amorce des gènes de surface de *Toxoplasma gondii* SAG2.F4 (5' GCT-ACC-TCG-AAC-AGG-AAC-AC 3'), SAG2.R4 (5' GCA-TCA-ACA-GTC-TTC-GTT-GC 3') et SAG2.F3 (5' TCT-GTT-CTC-CGA-AGT-GAC-TCC 3'), SAG2.R3 (5' TCA-AAG-CGT-GCA-TTA-TCG-C 3') 10 µM de chaque amorce pour *Brucella spp.* F (5'-GTGGCGATCTTGTCGG-3'), *Brucella spp.* R (5'-ACGGCGATGGATTTCGG-3'), *B.abortus* F (5'-GACCTCTTCGCCACCTATCTGG-3'), *B.abortus* R (5'-CCTTGTGCGGGGCCTTGTCC-3') et 5 U de *Taq polymerase* (BioLabs et Invitrogen). Pour la brucellose, le programme d'amplification a été fait à l'aide du thermocycleur (PTC-200 de MJ Research, Inc., USA), et comprenait une dénaturation initiale des brins d'ADN à

94 °C pour 5 minutes suivie d'un cycle qui incluait une dénaturation (94,0 °C, 45 secondes), un appariement des amorces (58 °C ; 1 min) et une extension de la copie du brin d'ADN (72 °C; 40 secondes), ce cycle était répété 34 fois et une extension finale (72 °C ; 10 minutes). Enfin, les échantillons pouvaient rester dans le thermocycleur à 4 °C indéfiniment.

Pour la toxoplasmose, le programme d'amplification comprenait une dénaturation initiale des brins d'ADN à 94 °C pour 5 minutes suivie d'un cycle qui incluait une dénaturation (94,0 °C, 30 secondes), un appariement des amorces (58 °C ; 1 min) et une extension de la copie du brin d'ADN (72 °C ; 1minute 15 secondes), ce cycle était répété 39 fois et une extension finale (72 °C ; 10 minutes). Enfin, les échantillons pouvaient rester dans le thermocycleur à 4 °C indéfiniment.

➤ **Contrôle de qualité**

• **Contrôle positif**

Pour le contrôle de qualité, nous avons utilisé l'ADN extrait à partir de l'antigène de *Brucella abortus* 99 du kit **Rose Bengale** de Bio Mérieux comme contrôle positif pour la brucellose, et l'ADN extrait à partir de l'antigène du kit de sérologie pour la toxoplasmose.

• **Contrôle négatif**

L'eau ultra pure a été utilisée comme contrôle négatif.

• **Contrôle de la spécificité des séquences d'amorces**

Nous avons également utilisé des échantillons externes de contrôle :

- Souches de levures ;
- Souches de *Xanthosomas* ;
- Souches de *Campylobacter jejuni*.

**NB : A chaque fois qu'une réaction était réalisée dans le thermocycler, elle était accompagnée d'un contrôle positif et d'un contrôle négatif.**

➤ **Migration de l'ADN**

La technique de l'électrophorèse sur gel d'agarose est basée sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique. Cette séparation s'effectue à travers la matrice du gel d'agarose. Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures.

❖ **Procédure**

Il faut d'abord préparer une solution d'agarose à 2 % de TBE 0,5 X au four à micro-ondes pendant 1,30 minutes et ajouter 30 µl (10 %) de bromure d'éthidium, mélanger puis mouler

dans un bac monté d'un peigne sur une surface plane bien ajustée. Laisser le gel se polymériser pendant environ 30 minutes. Ensuite placer le gel dans le bac à électrophorèse submergé d'une solution de TBE 0,5 X avant de loger les échantillons à tester et les contrôles en mélangeant 13 µl d'ADN et 2 µl de Dye dans les puits du peigne en commençant par un marker de taille connu. Puis faire migrer du pôle moins (-) vers le pôle (+) pendant environ 1 heure 30 minutes à 100 V. Enfin révéler les bandes en scannant le gel à l'aide de l'appareil photo **Transilluminator UVP** par l'ordinateur. Sauvegarder le fichier et analyser les paramètres moléculaires.

#### ❖ Procédure de la prise de l'image du gel d'électrophorèse

La prise de l'image se fait de la manière suivante :

- Allumer l'ordinateur ;
- Placer le gel dans la chambre UV munie de camera ;
- Vérifier si le gel est bien placé ;
- Ouvrir le Logiciel **Launch Doc-ItLS** sur l'ordinateur ;
- Cliquer sur **Camera** ensuite ;
- Allumer le photomètre avant de cliquer sur **Start Preview** ;
- Cocher la case **Color capture** ;
- Cliquer sur **capturer** ;
- Prendre la photo sans couleur en décochant la case **Color Capture** ;
- Puis enregistrer en cliquant sur **Save as**.

#### ➤ Interprétation de la PCR

Il s'agit d'identifier les bandes ADN du gel à l'aide d'un marqueur de poids moléculaire composé de fragments de taille : 100 bp, 200 bp, 500 bp, 700 bp, 1000 bp, et de comparer ces bandes avec des bandes spécifiques du micro-organisme recherché. Si la taille de la bande correspond à la même que celle spécifique du microorganisme recherché, alors il y a présence du micro-organisme recherché. Il est important de vérifier la hauteur de la bande des témoins positifs d'extraction et d'amplification ; elles devraient avoir la même que celle de l'ADN extrait du micro-organisme recherché.

#### ➤ Procédure du calcul de la taille des bandes : Logiciel Launch Doc-ItLS

Sélectionner **Add Lanes** puis cliquer sur le puits contenant la bande avant de sélectionner **Edits Objects**. Ensuite Ajuster la colonne, marquer chaque bande en cliquant sur **Add Band** et prendre **Edit Objects** bien positionné la bande. Nommer la bande en faisant un clic droit

sur chaque bande et en cliquant sur **propriétés**, faire un clic droit sur le puis du marqueur et sélectionner **Molecular weight**. Enfin prendre **100 paires de bases (Pb)** avant de réorganiser les bandes du marqueur, taper **OK**, cliquer sur **Data Explorer** et cliquer sur **Export to Excel**.

### **3.6 Collecte, gestion et Analyse des données**

Les informations sociodémographiques des patients ont été collectées avec des fiches d'enquête. Les données ont été saisies et enregistrés dans le logiciel **Microsoft office Excel 2010**. L'analyse des données a été faite avec les logiciels **SPSS IBM version 23** et **Epi info version 7**, les figures et les tableaux ont été traités avec le logiciel Microsoft (**office Word et Excel 2010**). Nous avons utilisé le test Khi-2 avec  $\alpha = 5 \%$  pour vérifier s'il y a une différence entre les proportions trouvées.

# RESULTATS

## 4. Résultats

### 4.1 Résultats descriptifs

#### 4.1.1 Résultats sociodémographiques

Au total 280 patients ont constitué notre population d'étude.

**Tableau VI:** Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	163	58,2
Féminin	117	41,8
Total	280	100

Le sexe le plus représenté était le sexe masculin avec un pourcentage de 58,2 % soit 157/280.

Le sexe ratio était de 1,39.

**Tableau VII:** Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge.

Tranche d'âge	Fréquence	Pourcentage
5-15	11	3,9
16-25	52	18,6
26-35	70	25,0
36-45	40	14,3
46-55	50	17,9
56-65	38	13,6
66 et plus	19	6,8
Total	280	100

[10-77]. La tranche d'âge [26-35] a été prédominante dans notre échantillonnage.

**Tableau VIII:** Répartition des patients en fonction de leur lieu de résidence

Commune ou cercle	Fréquence	Pourcentage
Bougouni	2	0,7
Dire	1	0,4
Divo	2	0,7
Douentza	7	2,5
Commune I	9	3,2
Commune II	6	2,1
Commune III	7	2,5
Commune IV	<b>150</b>	<b>53,2</b>
Kangaba	3	1,1
Kati	29	10,3
Kayes	2	0,7
Kita	4	1,4
Koutiala	1	0,4
Markala	1	0,4
Niafouké	1	0,4
San	3	1,1
Ségou	8	2,8
Commune V	25	8,9
Commune VI	11	3,9
Yanfolila	3	1,1
Yelimane	5	1,8
Total	280	100

La majorité des patients résidaient dans la commune IV de Bamako.



## 4.2 Résultats analytiques

### 4.2.1 Résultats des tests sérologiques

**Tableau IX:** Répartition des échantillons en fonction de la positivité aux tests sérologiques de la brucellose et de la toxoplasmose

Résultats	<i>Brucella</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>	
	Effectifs	Pourcentage	Effectifs	Pourcentage
<b>Positif</b>	10	<b>3,6</b>	99	<b>35,4</b>
<b>Négatif</b>	270	96,4	181	64,6
<b>Total</b>	280	100	280	100

Les prévalences sérologiques de la brucellose et de la toxoplasmose étaient respectivement 3,6 % et 35,4 %.

### 4.2.2 Résultats des tests moléculaires

- **Prévalence des échantillons positifs au gène *vdcc* de *Brucella spp.* et du gène *glk* de *Brucella abortus***

**Tableau X:** Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène *vdcc* de *Brucella spp.* et du gène *glk* de *Brucella abortus*

Résultats	<i>Brucella spp.</i>		<i>Brucella abortus</i>	
	Effectifs	Pourcentage	Effectifs	Pourcentage
<b>Positif</b>	67	<b>24,0</b>	42	<b>15,0</b>
<b>Négatif</b>	213	76,0	238	85,0
<b>Total</b>	280	100	280	100

Les prévalences des échantillons positifs à *Brucella spp.* et à *Brucella abortus* étaient 24,0 % et 15,0 %.

**Tableau XI:** Répartition des échantillons positifs au gène *vdcc* de *Brucella spp.* en fonction du sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	42	62,7
Féminin	25	37,3
Total	67	100

Le sexe Masculin est plus représenté avec 59,7 % soit 40/67.

**Tableau XII:** Répartition des échantillons positifs au gène *glk* de *Brucella abortus* en fonction du sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	26	61,9
Féminin	16	38,1
Total	42	100

La majorité des cas positifs de *Brucella abortus* était des hommes.

➤ **Prévalence des échantillons positifs au gène *SAG 2* de *Toxoplasma gondii***

**Tableau XIII:** Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène *SAG 2* de *Toxoplasma gondii*

<i>Toxoplasma gondii</i>	Fréquence	Pourcentage
Positif	136	48,6
Négatif	144	51,4
Total	280	100

Nous avons eu 48,6 % de positifs soit 136/280 échantillons. Les informations relatives aux symptômes présentés par les patients n'étaient pas assez renseignées. Néanmoins parmi les échantillons positifs à la toxoplasmose deux cas d'avortement ont été renseignés.

**Tableau XIV:** Répartition des échantillons positifs au gène *SAG 2* de *Toxoplasma gondii* en fonction du sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	75	55,1
Féminin	61	44,9
Total	136	100

Le sexe masculin est plus représenté avec 55,1 % contre 44,9 % pour le sexe féminin.

**Tableau XV:** Répartition des échantillons positifs au gène *SAG 2* de *Toxoplasma gondii* en fonction de la positivité au gène *vdcc* de *Brucella spp.*

<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Brucella spp.</i>		Total
	Positif	Négatif	
Positif	44	92	136
Négatif	23	121	144
Total	67	213	280

Parmi les échantillons positifs à *Toxoplasma gondii*, 44 étaient positifs à *Brucella spp.*

**Tableau XVI:** Test de performance diagnostic de la brucellose

Brucellose	PCR +	PCR -	Total
Sérologie +	6	4	10
Sérologie -	61	209	270
Total	67	213	280

La prévalence moléculaire de la brucellose était plus élevée que la prévalence sérologique. La sensibilité et la spécificité de la sérologie par rapport à la PCR étaient respectivement 8,95 % et 98,12 %. Il existait une discordance ( $p < 0,1$ ).

**Tableau XVII:** Test de performance diagnostic de la toxoplasmose

<b>Toxoplasmose</b>	<b>PCR +</b>	<b>PCR -</b>	<b>Total</b>
<b>Sérologie +</b>	<b>29</b>	<b>70</b>	<b>99</b>
<b>Sérologie -</b>	<b>107</b>	<b>74</b>	<b>181</b>
<b>Total</b>	<b>136</b>	<b>144</b>	<b>280</b>

L'étude a montré que 136 patients étaient positifs à la PCR parmi lesquels 99 patients étaient aussi positifs à sérologie. La prévalence moléculaire était nettement plus élevée que la prévalence sérologique. La sensibilité de la sérologie était 21,32 % et la spécificité est 51,39 %. Il existait une grande discordance ( $p < 0,0001$ ).

**COMMENTAIRES ET  
DISCUSSION**

## 5. Commentaires et Discussion

Le choix a été porté sur le CNAM du fait qu'il avait commandité les deux maladies dans son rapport de conseil d'administration comme des problèmes de santé publique négligés.

Nous avons choisi le LBMA du fait que c'est une structure de pointe qui travaille sur les outils de la biologie moléculaire et qui contribue à la promotion de l'application de la biologie moléculaire dans le diagnostic et la surveillance des maladies au Mali.

### ○ Limite de l'étude

Les informations concernant les symptômes présents chez les patients et les facteurs de risques auxquels les patients étaient exposés n'étaient pas assez renseignés sur les fiches d'enquête.

### ○ Extraction

Nous avons fait l'extraction de l'ADN des échantillons avec la méthode Salting out. En effet l'utilisation de cette méthode a été décrite comme ayant certains avantages, notamment l'extraction de l'ADN avec un excellent rendement en concentration et en pureté et une bonne déprotéinisation [116].

### ○ PCR

La PCR a été la méthode moléculaire utilisée dans notre étude. Dans une étude menée par **Queipo-Ortuno et al.** sa sensibilité était de 100 % et sa spécificité de 98,3 %, contre 70 % de sensibilité en hémoculture [115]. Ainsi, une analyse des données disponibles dans la littérature nous a permis d'identifier, les séquences spécifiques du gène *glk* pour la détection de *Brucella abortus*, les séquences spécifiques du gène *vdcc* (voltage-dependent-calcium-channel) pour la détection de *Brucella spp.* ainsi que les séquences spécifiques du gène *SAG 2* (Surface antigen) pour la détection de *Toxoplasma gondii*.

### ❖ Caractéristiques sociodémographiques

#### ○ Age

La tranche d'âge [26-35] était la plus représentée avec 25 %, suivie de la tranche d'âge [16-25] avec 18,6 %. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'au Mali plus de la moitié de la population est jeune. Ce résultat est en accord avec celui de **Traoré M** obtenu lors de son étude portant sur la séroprévalence de la toxoplasmose à Bamako en 2002 dans laquelle la tranche d'âge [26-35] était la plus représentée avec 32,26 % [120]. Notre résultat est proche de celui obtenu lors d'une étude réalisée au cabinet médical DUFFLO de Mopti par **Koita D et al.** portant sur la prévalence de la brucellose dans cette région dans laquelle la tranche d'âge [26-35] était la plus représentée avec 32,6 % [121]. Un résultat différent a été trouvé par

**Sidibé M** en 2011 à Mopti, chez qui la tranche d'âge [26-35] était de 11,8 % alors que la tranche d'âge [3-15] représentait 43,6 % [1]. Cette différence pourrait être due à la taille de sa population d'étude (498) ainsi qu'à l'âge de participation à son étude (3 à 77 ans).

- **Sexe**

Le sexe masculin était prédominant dans notre étude avec 58,2 %. Le sexe ratio était de 1,39. Ce résultat est proche de celui obtenu par **Assmar et al.** lors de leur étude menée en Iran dans laquelle, sur 13 018 sujets examinés, les hommes représentaient 52,6 % et les femmes 47,4 % des cas [122]. Notre résultat est également proche de celui de **Diaby S** obtenu lors de son étude menée en 2007 à Bamako dans laquelle les hommes représentaient 54 % des patients et les femmes 46 % [67].

- **Le lieu de résidence**

Les patients étaient majoritairement résidents à Bamako, ceci s'expliquerait par le fait que le site de l'étude était Bamako. Notre résultat est proche de celui de **Yéhia** en 2012 lors de son étude dans laquelle 66,8 % des patients habitaient à Bamako [123]. **Quilici S et al.** lors de leur étude portant sur la toxoplasmose au Mali en 1979 dans laquelle 78,90 % de sa population d'étude vivait à Bamako [13].

- ❖ **Résultats des analyses**

- **Résultats sérologiques**

- **Détection de *Toxoplasma gondii***

Nous avons trouvé une séroprévalence de 35,4 % soit 99/280. **Bamba et al.** ont trouvé un résultat proche du notre soit 31,9 % en 2013 au Burkina Faso chez 301 femmes enceintes [124]. Notre résultat est proche de celui trouvé lors d'une étude menée chez des femmes en âge de procréer à Dakar, par **Diallo et al.** qui ont trouvé 40,3 % soit 290/720 [125].

Notre résultat est différent de celui d'une étude menée en 2008 en Chine dans laquelle **Yue Xiao et al.** ont trouvé un taux d'infection de 12,3 % [126]. Cette différence pourrait être due au fait que l'habitude de consommer de la viande crue ou insuffisamment cuite et d'avoir des animaux de compagnie sont encore peu populaires en Chine.

- **Détection de *Brucella***

Dans notre étude la séroprévalence de la brucellose était de 3,6 %. Ce résultat est proche de celui de **Schelling et al.** obtenu lors d'une étude menée au Tchad soit une séroprévalence de 3,8 % soit 20/860 en 2000 [127]. Notre résultat concorde également avec celui de **Kassahun et al.** qui ont eu une séroprévalence de 4,8 % en 2006 lors de leur étude réalisée en Ethiopie [128]. Lors d'une étude en Libye en 2008, **Ahmed et al.** ont trouvé une

séropositivité élevée de 40 % [129]. Cette différence est probablement due au fait que cette étude a été menée dans une zone d'élevage.

- **Résultats moléculaires**

- **Détection de *Brucella***

*Brucella spp.* a été détecté dans 24 % des échantillons soit (67 /280). Ce résultat est proche de celui obtenu par **Álvarez-Ojeda et al.** lors de leur étude dans laquelle ils ont trouvé une prévalence de 25 % (23/92) par la méthode de PCR en 2005 [130]. **Mujuni et al.** ont eu également un résultat proche du notre soit 26 % (65/250) chez des femmes enceintes en 2017 en Tanzanie [131]. Lors d'une étude menée en Turquie **Dal et al.** ont trouvé une prévalence de 63,9 % soit 159/249 patients par la technique de la PCR. Cette prévalence élevée pourrait être due au fait que l'étude a concerné des patients suspects de brucellose admis à l'hôpital [132].

Sur les 280 échantillons, nous avons trouvé 42 positifs à *Brucella abortus* soit 15,0 %. Ce résultat est en accord avec celui trouvé lors d'une étude pourtant sur la prévalence de la brucellose humaine en Ethiopie par **Workalemahu et al.** qui était de 10,6 % [133]. Notre résultat concorde avec celui trouvé par **Mujuni et al.** soit 10,8 % lors de leur étude menée en Tanzanie en 2017 chez des femmes enceintes [131]. Lors d'une étude réalisée en Iran **Garshasbi et al.** ont eu un résultat différent du notre soit 63,8 % dans la province de Zanzan [134]. Les patients de cette étude étaient majoritairement soit en contact avec les animaux soit consommaient du lait non pasteurisé.

- **Détection de *Toxoplasma gondii***

Nous avons eu 48,6 % de positifs soit 136/280 échantillons. Ce résultat est proche de celui de **Dajem et al.** chez qui 56 cas étaient positifs à la toxoplasmose par la technique de la PCR sur 137 soit 41 % en 2012 en Arabie saoudite. Dans une étude menée dans le nord de la Tunisie, **Ben Abdallah et al.** ont eu un résultat proche du notre soit 45,6 % en 2010 chez des femmes enceintes [135]. Notre résultat est différent de celui de **Nimri et al.** qui ont trouvé une prévalence de 13,5 % lors d'une étude en 2004 soit 20/148 par la technique de la PCR [136]. Cette différence peut être due à la présence de facteurs inhibiteurs, tels que les porphyrines dans le sang qui peuvent inhiber la réaction de PCR [137].

La prévalence moléculaire de la toxoplasmose (48,6 %) était nettement plus élevée que la prévalence sérologique de la toxoplasmose (35,4 %). Parmi les échantillons positifs à la toxoplasmose moléculaire deux provenaient de femmes ayant fait des avortements à répétition. Ces échantillons étaient cependant négatifs à la sérologie de la toxoplasmose. Ce résultat concorde avec celui de **Dajem et al.** lors de leur étude menée en 2012 en Arabie



saoudite qui ont trouvé une prévalence de 41 % à la toxoplasmose par la technique de la PCR. Alors que le test IgM-ELISA a détecté 6,5 % de ces cas et la détection d'immunoglobuline G était positive chez 53 soit 38,6 % des patients [16]. Lors d'une autre étude menée en 2009 par **Nagaty et al.** chez des mères et leurs nouveaux nés la technique de la PCR avait détecté une prévalence de 32,85 % (23/70 sujets) par rapport aux tests ELISA-IgM qui a détecté 25,71 % (18/70) [138]. Lors d'une étude menée en Libye par **Gashout et al.** sur 21,5 % des échantillons étaient positifs à la sérologie alors que la technique de la PCR a détecté 12,42 % des échantillons [134]. Selon **Guy et Joynson** cela pourrait s'expliquer par le fait que le temps de clairance de l'ADN de *Toxoplasma* dans le sang du patient a été estimé à être à 5,5 à 13 semaines [139].

La prévalence moléculaire de la brucellose (24 %) était plus élevée que la prévalence sérologique de la brucellose (3,6 %). Notre résultat concorde avec celui obtenu par **Shahrokhadi et al.** lors de leur étude portant sur 116 patients suspectés de brucellose dans un hôpital en Iran, 100 % des échantillons soit 116/116 a été détecté par la technique de la PCR alors que la SAT a détecté 88,79 % soit 103/116 [140]. Lors d'une étude menée par **Dal et al.** la positivité à la brucellose par la PCR (64 %) était plus élevée que celle par la STAT (57,5 %) [132]. Notre résultat est différent de celui de **Al-Attas et al.** qui ont détecté 14 échantillons par la PCR parmi 17 échantillons déjà séropositifs à la brucellose [141]. Cette différence pourrait être due au fait que les échantillons négatifs à la PCR provenaient des patients qui avaient pris le traitement.

**CONCLUSION  
ET RECOMMANDATIONS**

## 6. Conclusion

Les prévalences trouvées dans cette étude étaient 24 % pour la brucellose et 48,6 % pour la toxoplasmose. Les prévalences obtenues avec la technique de la PCR étaient plus élevées que celles obtenues avec la sérologie. Ces résultats indiquent que la technique de la PCR pourrait donc être un outil de diagnostic prometteur pour l'investigation et la surveillance de routine de la brucellose et de la toxoplasmose. Cette technique permet de mettre rapidement en évidence de façon spécifique le génotype de *Brucella*, et la détection de *Toxoplasma gondii*, ce qui pourrait être utile pour le diagnostic des échantillons cliniques. Une étude élargie à la population générale permettrait de mieux apprécier l'ampleur de ces maladies au Mali.

## **7. Recommandations :**

### **➤ Au ministère de la santé**

Avec le constat que la brucellose et la toxoplasmose sont présentes dans la population malienne, il faudrait mieux connaître leur taux de prévalence parmi les différents groupes de la population.

### **➤ Au LBMA**

De renforcer les liens de collaboration avec le Laboratoire Central Vétérinaire (LCV).

### **➤ A la population**

- Eviter la consommation de viandes mal cuites et autres crudités ;
- Éviter la consommation de lait non pasteurisé ;
- Prendre des précautions d'hygiène en cas de contact avec les animaux.

# REFERENCES

## 8. Références

1. Sidibé M. Séroprévalence de la Brucellose Humaine dans la zone péri-urbaine de la région de Mopti. Thèse de Pharmacie. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, 2011; N°18.
2. Roux J. Epidémiologie et prévention de la brucellose. Bulletin of the World Health Organization. 1979; 57(2): 179.
3. Guide de formation sur les sept zoonoses au Mali. 2017.
4. Cissé A. Séroprévalence de la brucellose humaine et animale dans la zone urbaine de Mopti. Thèse de médecine. Université de Bamako. Faculté de médecine et d'odontostomatologie, 2015; N°89.
5. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis. 2006; 6(2): 91-9.
6. Angba A, Traoré A, Fritz P. Situation de la brucellose animale en Côte d'Ivoire. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. 1987; 40(4): 325-9.
7. Simon A. La toxoplasmose chez les Inuits Investigation de l'écologie de *Toxoplasma Gondii* dans l'arctique Canadien. Thèse de doctorat. Faculté de médecine vétérinaire. 2012; N°188.
8. KRAVETZ, Jeffrey D. et FEDERMAN, Daniel G. Toxoplasmose pendant la grossesse. The American Journal of Medicine, 2005 ; 118(3) : 212-216.
9. Marie J-L, De Brovcker C-A, Davoust B. La Toxoplasmose et la maladie de Chagas à propos des cas survenus chez des militaires en Guyane française, revue sur la contamination par la voie alimentaire en Amazonie. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 2009.
10. Phillips E. Toxoplasmosis. Can Fam Physician. 1998; 44: 1823-7.
11. Baril L, Ancelle T, Thuilliez P, Goulet V, Tirard V, Carme B. Facteurs de risque d'acquisition de la toxoplasmose chez les femmes enceintes en 1995 (France). Bulletin épidémiologique hebdomadaire, 1996 ; 16: 73-5.

12. Giraud L. La toxoplasmose: données épidémiologiques et recommandations aux femmes en- ceintes séronégatives. Thèse de doctorat, 2004.
13. Quilici M, Ranque P, Tounkara A. La toxoplasmose en République du Mali. approche épidémiologique. *Acta Tropica*, 1976; 33(3) : 229-239
14. Derouin F, Mazon MC, Garin YJ. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1987; 25(9): 1597-600.
15. Leal-Klevezas DS, Martínez-Vázquez IO, García-Cantú J, López-Merino A, Martínez-Soriano JP. Use of polymerase chain reaction to detect *Brucella abortus* biovar 1 in infected goats. *Veterinary Microbiology*. 2000; 75(1): 91-7.
16. Bin Dajem SM, Almushait MA. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA by PCR in blood samples collected from pregnant Saudi women from the Aseer region, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med*. 2012; 32(5): 507-12.
17. Hebano H. Etude sero-épidémiologique de la Brucellose animale dans la république de Djibouti. Thèse de doctorat. Université Cheick Anta Diop de Dakar .Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar, 2013; N°20.
18. Morata P, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, García-Ordoñez MA, Cárdenas A, Colmenero JD. Development and Evaluation of a PCR-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Human Brucellosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(1): 144-8.
19. Boukary AR, Saegerman C, Adehossi E, Matthys F, Vias G, Yenikoye A, *et al.* La brucellose en Afrique subsaharienne, *Ann. Méd. Vét.*, 2014; 158: 39-56.
20. Verger JM, Grayon M, Doutre M-P, Sagna F. *Brucella abortus* d'origine bovine au Sénégal : identification et typage. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*. 1979; 32: 25-32.
21. Domenech J, Corbel MJ, Thomas EL, Lucet P. La brucellose bovine en Afrique centrale. 6. Identification et typage des souches isolées au Tchad et au Cameroun. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 1983; 36(1): 19-25.

22. Akakpo AJ, Saley M, Bornarel P, Sarradin P. Epidémiologie de la brucellose bovine en Afrique tropicale. II. Analyse sérologique et identification des deux premières souches de *Brucella abortus* biotype 3 au Niger. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 1986; 39(2): 175-9.
23. Akakpo AJ. Brucelloses animales en Afrique tropicale. Particularités épidémiologique, clinique et bactériologique. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 1987; 40(4): 307-20.
24. Le Flèche P, Jacques I, Grayon M, Al Dahouk S, Bouchon P, Denoeud F, *et al.* Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiology*. 2006; 6(1): 9.
25. Muendo EN, Mbatha PM, Macharia J, Abdoel TH, Janszen PV, Pastoor R, *et al.* Infection of cattle in Kenya with *Brucella abortus* biovar 3 and *Brucella melitensis* biovar 1 genotypes. *Trop Anim Health Prod*. 2012; 44(1): 17-20.
26. Rubach MP, Halliday JEB, Cleaveland S, Crump JA. Brucellosis in low-income and middle-income countries. *Curr Opin Infect Dis*. 2013; 26(5): 404-12.
27. Yohannes M, Degefu H, Tolosa T, Belihu K, Cutler RR, Cutler SJ. Brucellosis in Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*. 2013; 7: 1150-7.
28. Dao S, Traore M, Sangho A, Dantoume K, Oumar AA, Maiga M, *et al.* Séroprévalence de la brucellose humaine à Mopti, Mali. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 2009; 2: 24-6.
29. Godfroid J, Garin-Bastuji B, Saegerman C, Blasco JM. Brucellosis in terrestrial wildlife. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 2013; 32(1): 27-42.
30. BMEII0957 - Protéine Vdcb - *Brucella melitensis* biotype 1 (souche 16M / ATCC 23456 / NCTC 10094) - gène et protéine BMEII0957 [Internet]. [cité 27 sept 2018]. Disponible sur: <https://www.uniprot.org/uniprot/Q8YBE3>



31. Halimatou AH. Evaluation de trois tests de dépistage de la brucellose bovine pour une aide décisionnelle de contrôle de la maladie dans le bassin laitier de Niamey (Niger). Mémoire de master. Ecole Inter-Etats des sciences et Médecine vétérinaires de Dakar, 2014; N°15.
32. Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, et al. *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2008; 58(2): 375-82.
33. Scholz HC, Nockler K, Gollner C, Bahn P, Vergnaud G, Tomaso H, et al. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2010; 60(4): 801-8.
34. Gall D, Nielsen K. Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison: Revue Scientifique et Technique de l'OIE. 2004; 23(3): 939-1002.
35. Nielsen K, Smith P, Widdison J, Gall D, Kelly L, Kelly W, et al. Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7. Veterinary Microbiology. 2004; 100(1-2): 25-30.
36. Hamou A. Enquête épidémiologique sur la brucellose au niveau de la wilaya de Tlemcen et création d'une bibliothèque d'ADN pour étude cas-témoins. Mémoire de master. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen. . Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers; 2016.
37. Al-Tawfiq JA. Therapeutic options for human brucellosis. Expert Review of Anti-infective Therapy. 2008; 6(1): 109-20.
38. Haag AF, Myka KK, Arnold MFF, Caro-Hernández P, Ferguson GP. Importance of Lipopolysaccharide and Cyclic  $\beta$ -1,2-Glucans in *Brucella*-Mammalian Infections. Int J Microbiol. 2010; 2010:124509.
39. SOW I. Evaluation du risque de brucellose lié à la consommation du lait dans la commune rurale de Cinzana (Ségou - Mali). Université de Bamako. Faculté des sciences et techniques. Mémoire de DEA.2011.

40. Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP. Oral Infections with Toxoplasma Cysts and Oocysts in Felines, Other Mammals, and in Birds. *The Journal of Parasitology*. 1972; 58(5): 928.
41. Halling SM, Peterson-Burch BD, Bricker BJ, Zuerner RL, Qing Z, Li L-L, et al. Completion of the Genome Sequence of *Brucella abortus* and Comparison to the Highly Similar Genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *Journal of Bacteriology*. 2005; 187(8): 2715-26.
42. DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, et al. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. *PNAS*. 2002; 99(1): 443-8.
43. Villanueva R M Y. Caractérisation du système à deux composants PrlS et PrlR de *Brucella melitensis*. *Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix. Faculté des Sciences, Département de Biologie*; 2010; 302. [cité 22 déc 2018]. Disponible sur: [https://pure.fundp.ac.be/ws/files/12192209/PDF\\_01\\_These\\_RM\\_Yanez\\_Villanueva.pdf](https://pure.fundp.ac.be/ws/files/12192209/PDF_01_These_RM_Yanez_Villanueva.pdf)
44. Rest RF, Robertson DC. Glucose Transport in *Brucella abortus*. *Journal of Bacteriology*. 1974; 118(1): 250-8.
45. McDermott JJ, Arimi S. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90(1-4): 111-34.
46. Piranfar V, Sharif M, Hashemi M, Vahdati AR, Mirnejad R. Detection and discrimination of two *Brucella* species by multiplex real-time PCR and high-resolution melt analysis curve from human blood and comparison of results using RFLP. *Iran J Basic Med Sci*. 2015; 18(9): 6.
47. Robinson A. For the Animal Production and Health Division FAO Agriculture Department.: 45.

48. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Fiche de description de danger transmissible par les aliments: *Brucella* spp. Juin 2006. [cité 30 mai 2018]. Disponible sur: [http://umvf.omsk-osma.ru/infectiologie/www.infectiologie.com/site/medias/\\_documents/officiels/afssa/Brucella090207.pdf](http://umvf.omsk-osma.ru/infectiologie/www.infectiologie.com/site/medias/_documents/officiels/afssa/Brucella090207.pdf)
49. Blanc-Gruyelle A-L, Lemaire X, Guaguere A, Sotto A, Senneville E, Lavigne J-P. [An atypical presentation of human brucellosis]. *Med Mal Infect.* 2017; 47(2): 164-6.
50. Institut de Veille Sanitaire. Etude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, 2002 - 2004. [cité 25 déc 2018]. Disponible sur: [http://opac.invs.sante.fr/doc\\_num.php?explnum\\_id=4036](http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4036)
51. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis.* 1997; 3(2): 213-21.
52. Mailles A, Vaillant V. Etude sur les brucelloses humaines en France métropolitaine, (InVS), 2002 - 2004. [cité 28 mai 2018]. Disponible sur: [http://opac.invs.sante.fr/doc\\_num.php?explnum\\_id=4036](http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=4036)
53. Zowghi E, Ebadi A, Mohseni B. Isolation of *Brucella* organisms from the milk of seronegative cows. *Rev Sci Tech.* 1990; 9(4): 1175-8.
54. Chakroun M, Bouzouaia N. La Brucellose: une zoonose toujours d'actualité  
brucellosis: a topical zoonosis. *Rev Tun Infectiol.* 2007; 1(2): 1–10.
55. Heredia C, Kathlène, Mendez M, Zalvaleta M, Manrique J, Franco M, et al. Evaluation of Brucellosis by PCR and persistence after treatment in patients returning to the hospital for follow-up. *Am J Trop Med Hyg.* 2007; 76(4): 5.
56. WORLD HEALTH ORGANIZATION, et al. Stratégies recommandées par l'OMS contre les maladies transmissibles-prévention et lutte. Genève: Organisation mondiale de la Santé, 2002.
57. Dao O. Resultat preliminaire de l'étude seroépidémiologique de la toxoplasmose au cours du VIH/SIDA. Thèse de Médecine. Université de Bamako. Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie; 2005; N°157.

58. Nicolle C. Sur une infection a corps de Leishman (on organismes voisins) du gondi. C R Acad Sci. 1908; 147: 736.
59. Burnet J. Séroprévalence de Toxoplasma Gondii dans les populations naturelles d'ongulé de montagne: étude rétrospective et comparaison des tests Elisa et MAT. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Ecole Nationale vétérinaire de Lyon., 2007. Disponible sur: e ([http://www3.vet-lyon.fr/bib/fondoc/th\\_sout/dl.php?file=2007lyon103.pdf](http://www3.vet-lyon.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2007lyon103.pdf))
60. Ajzenberg D. Apport des microsatalites dans le typage des isolats de Toxplasma gondii. Thèse de Pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie, 2000; N°318.
61. Mozzatto L, Procianoy RS. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2003; 45(3): 147-51.
62. Cowen D, Wolf A. Experimental Congenital Toxoplasmosis: Ii. Transmission of Toxoplasmosis to the Placenta and Fetus Following Vaginal Infection in the Pregnant Mouse. Journal of Experimental Medicine. 1950; 92(5): 403-16.
63. Sabin AB, Feldman HA. Dyes as Microchemical Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoon Parasite (Toxoplasma). Science. 1948; 108(2815): 660-3.
64. Goldman M. Staining Toxoplasma Gondii with fluorescein-labelled antibody. J Exp Med, 1957; 105(6): 557-73.
65. Kelen AE, Ayllon-Leindl L, Labzoffsky NA. Indirect Fluorescent Antibody Method in Serodiagnosis of Toxoplasmosis. Can J Microbiol, 1962; 8(4): 545-54.
66. Fatoumata C. Séroprévalence et facteurs de risque associés de la toxoplasmose et de la néosporose chez la femme en consultation prénatale et chez les carnivores domestiques dans la région de Dakar (Sénégal).Mémoire de Master. Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. Université Cheick Anta Diop. 2012; (15): 42.

67. Diaby S. Aspects clinique, thérapeutiques et pronostique de la toxoplasmose cérébrale au cours du VIH/SIDA dans le service des maladies infectieuses du centre hospitalier universitaire du Point G. Thèse de médecine. Université de Bamako. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, 2007; N°139.
68. Giraud L. La toxoplasmose données épidémiologiques et recommandations aux femmes enceintes séronégatives. Thèse de doctorat. 2004. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01214509/document>
69. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL). Toxoplasmose. Université Médicale Virtuelle Francophone.2014.
70. Maiga Y, Samake M, Marjolet M. Toxoplasmose à Bamako (république du Mali). Prévalence de l'affection chez les femmes en âge de procréer. Médecine tropicale. 1984; 44(4): 319–322.
71. Adoubryn KD, Ouhon J, Nemer J, Yapo CG, Assoumou A, Ahoba JM. Dépistage sérologique de la toxoplasmose acquise chez les femmes en âge de procréer dans la commune de Yopougon (Abidjan, Côte d'Ivoire). Bull Soc Pathol Exot. 2004; 97(5): 345–348.
72. Akpovi J, Kone M, Takpara I, Perrin R, Massougbodji A, Alihonou E. Grossesse et toxoplasmose à Cotonou. Le Bénin Médical. 1998; 1–4.
73. Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J, Lapierre J. Contribution à l'étude de la toxoplasmose chez les femmes enceintes au CHU de Lomé (Togo). Médecine d'Afrique noire. 1987; 34(7): 639–641.
74. Faye O, Leye A, Dieng Y, Richard-Lenoble D, Diallo S. La toxoplasmose à Dakar. Sondage séroépidémiologique chez 353 femmes en âge de procréer. Bulletin de la Société de pathologie exotique. 1998; 91(3): 249–250.
75. Ndour APN. Analyse du risque de transmission de *Toxoplasma gondii* à la femme dans la région de Dakar (Sénégal). Mem Epid. 2012.

76. Ndiaye A, Ndiaye D, Sall ND. Actuality of Seroprevalence of Toxoplasmosis in Women, Dog and Cat in Dakar in 2012. *Open Science Repository Medicine*, 2013; (open-access):e70081980.
78. Ouermi D, Simpore J, Belem AM, Sanou DS, Karou DS, Ilboudo D, et al. Co-infection of *Toxoplasma gondii* with HBV in HIV-infected and uninfected pregnant women in Burkina Faso. *Pak J Biol Sci*. 2009; 12(17): 1188-93.
79. Bamba S, Some DA, Chemla C, Geers R, Guiguemde TR, Villena I. Analyse sérologique de la toxoplasmose pergravidique: évaluation des risques et perspectives du dépistage prénatal au centre hospitalier universitaire de Bobo Dioulasso au Burkina Faso. *Pan Afr Med J*, 2012; 12(1): 1-6.
80. Deji-Agboola AM, Busari OS, Osinupebi OA, Amoo AOJ. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among pregnant women attending antenatal clinic of Federal Medical Center, Lagos, Nigeria. *Int J Biol Med Res*. 2011; 2(4): 1135–1139.
81. Mansouri BE, Rhajaoui M, Sebti F, Amarir F, Laboudi M, Bchitou R, et al. Séroprévalence de la toxoplasmose chez la femme enceinte dans la ville de Rabat au Maroc. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*. 2007; 100(4): 289-90.
82. Khemiri B, Mahjoub S, Hmid RB, Lebbi I, Abed A, Sfar E, et al. La séroprévalence de la toxoplasmose et de la rubéole parmi une population de femmes enceintes consultant au CMNRT: service A. *Tunisie médicale*. 1997; 75(10): 788–793.
83. Chouchane M, Baki CA, Touabti A, Laouamri S. la Toxoplasmose chez la femme enceinte à Sétif, étude préliminaire. *Faculté de médecine, Université Ferhat Abbas, Setif, communication*. 2008.
84. Ibrahim HM, Huang P, Salem TA, Talaat RM, Nasr MI, Xuan X, et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Antibodies in Northern Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2009; 80(2): 263-7.
85. Nabias R, Ngouamizokou A, Migot-Nabias F, Mbou-Moutsimbi RA, Lansoud-Soukate J. Enquête sérologique sur la toxoplasmose chez les consultantes du centre de P.M.I. de Franceville (Gabon). *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 1998; 91: 318-20.

86. Morvan JM, Mambely R, Selekon B, Coumanzi-Malo MF. La toxoplasmose à l'Institut Pasteur de Bangui, République centrafricaine (1996-1998) : données sérologiques. *Bull Soc Pathol Exot.* 1999; 92(3): 157-60.
87. Makuwa M, Lecko M, Nsimba B, Bakouetela J, Lounana-Kouta J. Toxoplasmose et la femme enceinte au Congo: Bilan de 5 ans de dépistage (1986-1990). *Médecine d'Afrique noire.* 1992; 39(7): 493-495.
88. Njunda AL, Assob JCN, Nsagha DS, Kamga HL, Nde PF, Yugah VC. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Cameroon. *J Public Health Africa,* 2011; 2(2).
89. Hung C-C, Fan C-K, Su K-E, Sung F-C, Chiou H-Y, Gil V, et al. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe. *Trans R Soc Trop Med Hyg,* 2007; 101(2): 134-9.
90. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts 1998.
91. Beugnet F, Bourdoiseau G. Coccidiose toxoplasmique du chat et toxoplasmose. *EMC - Vétérinaire,* 2005; 2(2): 63-73.
92. Khan A, Taylor S, Su C, Mackey AJ, Boyle J, Cole R, et al. Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. *Nucleic Acids Res,* 2005; 33(9): 2980-92.
93. Wasmuth JD, Pszeny V, Haile S, Jansen EM, Gast AT, Sher A, et al. Integrated Bioinformatic and Targeted Deletion Analyses of the SRS Gene Superfamily Identify SRS29C as a Negative Regulator of *Toxoplasma* Virulence. *mBio.* 2012; 3(6): e00321-12.
94. Radke JR, Gubbels M-J, Jerome ME, Radke JB, Striepen B, White MW. Identification of a sporozoite-specific member of the *Toxoplasma* SAG superfamily via genetic complementation. *Mol Microbiol.* 2004; 52(1): 93-105.

95. Boothroyd JC, Black M, Bonnefoy S, Hehl A, Knoll LJ, Manger ID, et al. Genetic and biochemical analysis of development in *Toxoplasma gondii*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1997; 352(1359):1347-54.
96. Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. Toxoplasmosis of animals and man. 1988.
97. Dubey JP. Toxoplasmosis--an overview. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1991; 22 Suppl: 88-92.
98. Kravetz JD, Federman D. Toxoplasmosis in pregnancy. *The American Journal of Medicine*. 2005; 118(3): 212-6.
99. Dubey JP. Chapter 1 - The History and Life Cycle of *Toxoplasma gondii*. In: Weiss LM, Kim K, éditeurs. *Toxoplasma Gondii (Second Edition)*. Boston: Academic Press, 2014; 1-17.
100. Mege J-L, Capo C. La polarisation des macrophages, le nœud gordien des infections bactériennes ? *Med Sci (Paris)*. 2010; 26(1): 83-8.
101. Fentress SJ, Behnke MS, Dunay IR, Mashayekhi M, Rommereim LM, Fox BA, et al. Phosphorylation of immunity-related GTPases by a *Toxoplasma gondii* secreted kinase promotes macrophage survival and virulence. *Cell Host Microbe*. 2010; 8(6): 484-95.
102. Dubey J, Jones J. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*. 2008; 38(11): 1257-78.
103. Salle IM. Etude sur la prevalence de la toxoplasmose sur les chats et les femmes enceintes dans cinq quartiers de Dakar. *L'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (Sénégal)* .Faculté des sciences et techniques; 2010; N°6.
104. Miller MA, Ehlers K, Dubey JP, Van Steenberg K. Outbreak of Toxoplasmosis in Wallabies on an Exotic Animal Farm. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1992; 4(4): 480-3.



105. Balland E. Les difficultés d'interprétation de la sérologie de toxoplasmose pendant la grossesse. Etat des lieux des stratégies diagnostiques et thérapeutiques en cas de séroconversion maternelle à la Maternité Régionale Universitaire de Nancy. Mémoire de fin d'étude. Ecole de Sages-femmes Albert Fruhinsholtz. Université Henri Poincaré, Nancy I; 2009; N° 80.
106. Biomnis Biologie medicale spécialisée. Toxoplasmose. 2013. [cité 16 juin 2018]. Disponible sur: <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/TOXOPLASMOSE.pdf>
107. Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1989; 27(8): 1787-92.
108. Maubon D, Brenier-Pinchart M-P, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H. Apport de la PCR quantitative dans le diagnostic de la toxoplasmose: la voie de la standardisation? *Pathologie Biologie*. 2007; 55(6): 304-11.
109. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, Decoster A, Lappalainen M, Pinon J-M, et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: A multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1999; 180(2): 410-5.
110. Mamady MK. La prévalence du paludisme sur grossesse dans le district de Bamako. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie; 2015; N°57.
111. TOGOLA S. Evolution de la prévalence et de l'intensité de *Schistosoma haematobium* de 2011 à 2014 en milieux scolaires du district de Bamako. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie; 2014; N°254.
112. Mali • Fiche pays • PopulationData.net. [cité 12 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.populationdata.net/pays/mali/>
113. Tall K. Etude épidémiologique et prise en charge de la Leishmaniose cutanée à Bamako et dans deux villages endémiques du Mali. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie. 2008; N°357.

114. Siby MS. Etude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de Bamako. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie;2008; N°234.
115. Casañas MC, Queipo-Ortuño MI, Rodriguez-Torres A, Orduña A, Colmenero JD, Morata P. Specificity of a Polymerase Chain Reaction Assay of a Target Sequence on the 31-Kilodalton Brucella Antigen DNA Used to Diagnose Human Brucellosis. EJCMI. 2001; 20(2): 127-31.
116. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988; 16(3): 1215.
117. Queipo-Ortuño MI, Morata P, Ocón P, Manchado P, Colmenero JD. Rapid diagnosis of human brucellosis by peripheral-blood PCR assay. Journal of Clinical Microbiology. 1997; 35(11): 2927-30.
118. Sifuentes-Rincón AM, Revol A, Barrera-Saldaña HA. Detection and Differentiation of the Six Brucella Species by Polymerase Chain Reaction. Molecular Medicine. 1997; 3(11): 734.
119. Grover CM, Thulliez P, Remington JS, Boothroyd JC. Rapid prenatal diagnosis of congenital Toxoplasma infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. Journal of Clinical Microbiology. 1990; 28(10): 2297-301.
120. M Traoré. Etude séroépidémiologique de la toxoplasmose dans le district de Bamako. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie; 2002; N°101.
121. D Koita. Prévalence de la brucellose dans le centre urbain de Mopti: au cabinet médical Dufflo sise à Mossinkoré. Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, 2008; N°515.
122. Assmar M, Amirkhani A, Piazak N. Toxoplasmose en Iran. Résultats d'une étude séroépidémiologique. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique Jan 1997; 90(1): 19-21.

123. Yehia S. Morbidité et mortalité des patients infectés par le VIH/SIDA hospitalisés dans le Service de Maladies Infectieuses et Tropicales du CHU du Point Université de Bamako. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie, 2012; N°238.
124. Bamba S, Some DA, Guiguemde TR, Bambara M, Villena I. [Screening and management of the maternal and congenital toxoplasmosis in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *Mali Med.* 2014; 29(2): 38-46.
125. Diallo S, Ndir O, Dieng Y, Leye A, Dieng T, Bah IB, et al. Séroprévalence de la toxoplasmose à Dakar (Sénégal) en 1993 : étude chez des femmes en période de procréation. *Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé.* 1996; 6(2): 102-6.
126. Xiao Y, Yin J, Jiang N, Xiang M, Hao L, Lu H, et al. Seroepidemiology of human *Toxoplasma gondii* infection in China. *BMC Infectious Diseases.* 2010; 10(1): 4.
127. Schelling E, Diguimbaye C, Daoud S, Nicolet J, Boerlin P, Tanner M, et al. Brucellosis and Q-fever seroprevalences of nomadic pastoralists and their livestock in Chad. *Preventive Veterinary Medicine.* 2003; 61(4): 279-93.
128. Kassahun J, Yimer E, Geyid A, Abebe P, Newayeslassie B, Zewdie B, et al. Seroprevalence of brucellosis in occupationally exposed people in Addis Ababa, Ethiopia. *Ethiop Med J.* 2006; 44(3): 245-52.
129. Ahmed MO, Elmeshri SE, Abuzweda AR, Blauo M, Abouzeed YM, Ibrahim A, et al. Seroprevalence of brucellosis in animals and human populations in the western mountains region in Libya, December 2006–January 2008. *Eurosurveillance.* 2010; 15(30): 19625.
130. Álvarez-Ojeda MG, Saldaña-Fuentes C, Ballesteros-Elizondo MR, Martínez-Vázquez IO, López-Merino A, Briones Lara E, et al. [Comparison of the tests polymerase chain reaction, serology, and blood culture with respect to sensitivity and specificity for detection of *Brucella* spp in human samples]. *Gac Med Mex.* 2015; 151(5): 620-7.
131. Mujuni F, Andrew V, Mngumi EB, Chibwe E, Mshana SE, Mirambo MM. Predominance of *Brucella abortus* antibodies among women with spontaneous abortion in the city of Mwanza: unrecognized link or coincidence? *BMC Res Notes.* 2018; 11(1): 792.

132. Dal T, Kara SS, Cikman A, Balkan CE, Acikgoz ZC, Zeybek H, et al. Comparison of multiplex real-time polymerase chain reaction with serological tests and culture for diagnosing human brucellosis. *J Infect Public Health*. 2019; 12(3): 337-42.
133. Workalemahu B, Sewunet T, Astatkie A. Seroepidemiology of Human Brucellosis Among Blood Donors in Southern Ethiopia: Calling Attention to a Neglected Zoonotic Disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2017; 96(1): 88-92.
134. Gashout A, Amro A, Erhuma M, Al-Dwibe H, Elmaihub E, Babba H, et al. Molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in Libya. *BMC Infectious Diseases*. 2016; 16(1): 157.
135. Ben Abdallah R, Siala E, Bouafsoun A, Maatoug R, Souissi O, Aoun K, et al. Dépistage de la toxoplasmose materno-foetale : étude des cas suivis à l'Institut Pasteur de Tunis (2007–2010). *Bull Soc Pathol Exot*. 2013; 106(2): 108-12.
136. Nimri L, Pelloux H, Elkhatib L. detection of *Toxoplasma gondii* DNA and specific antibodies in high-risk pregnant women. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2004; 71(6): 831-5.
137. Ven E van de, Melchers W, Galama J, Camps W, Meuwissen J. Identification of *Toxoplasma gondii* infections by BI gene amplification. *Journal of Clinical Microbiology*. 1991; 29(10): 2120-4.
138. Nagaty IM, Ibrahim KM, Abdel-Tawab AH, Hassan A-EA. Diagnosis of *Toxoplasma gondii* by ELISA and PCR in mothers and their infants. *J Egypt Soc Parasitol*. 2009; 39(2): 625-32.
139. Guy EC, Joynson DHM. Potential of the Polymerase Chain Reaction in the Diagnosis of Active *Toxoplasma* Infection by Detection of Parasite in Blood. *J Infect Dis*. 1995; 172(1): 319-22.
140. Shahrokhbadi R, Rahimi E, Mommtaz H, Poursahebi R, Doostmohamadi S. The Efficacy of Multiplex PCR in Comparison with Agglutination and ELISA in Diagnosis of Human Brucellosis. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2014; 16(4): 24-8.

141. Al-Attas Rabab A., Al-Khalifa Mohammad, Al-Qurashi Abdul Rahman, Badawy Mohammad, Al-Gualy Nafisa. Evaluation of PCR, Culture and Serology for the Diagnosis of Acute Human Brucellosis. *Annals of Saudi Medicine*. 2000; 20(3-4): 224-8.

# ANNEXES

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** TRAORE

**Prénom :** Mariam

**Tel :** (00223) -71283507 **Email :** rimatraore44@gmail.com

**Titre de la thèse :** Intérêt du diagnostic moléculaire des pathogènes intracellulaires : cas de la brucellose et de la toxoplasmose à Bamako.

**Nationalité :** Malienne

**Année Universitaire :** 2018-2019

**Ville de soutenance :** Bamako-Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

**Secteur d'intérêt :** Biologie Moléculaire, Parasitologie, Bactériologie, Santé publique.

### Résumé

La brucellose humaine et la toxoplasmose sont des maladies zoonotiques. En Afrique ces maladies sont souvent méconnues voire négligées par manque de prise en considération ou simplement par manque de structures de diagnostic adaptées. Les pathogènes en causes étant intracellulaires, sont difficiles à mettre en évidence car ils ne sont pas tout le temps exposés aux anticorps. La biologie moléculaire avec la technique de la PCR permet de les identifier dans l'organisme. D'où l'intérêt de cette étude dont l'objectif était d'évaluer l'apport de la biologie moléculaire par rapport à la sérologie au diagnostic de la toxoplasmose et de la brucellose à Bamako, au Mali.

Il s'agissait d'une étude transversale, portant sur 280 patients venus en consultation au Centre Nationale d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM) de Bamako (octobre 2015 - janvier 2016). Le kit Toxo Screen DA (Bio Mérieux) et le test Rose Bengale (Bio Mérieux) ont été utilisés pour la sérologie. Les ADN ont été extraits avec le kit Qiagen mini Blood et la méthode Salting out. La PCR a été réalisée en utilisant les marqueurs *vdcc* et *glk* respectivement pour la détection de *Brucella spp.* et de *Brucella abortus* et du gène *SAG* pour la détection de *Toxoplasma gondii*. Les performances diagnostiques ont été établies et le test statistique de Chi<sup>2</sup> avec alpha égal 5%.

Sur les 280 échantillons analysés nous avons trouvé une prévalence sérologique de 3,6 % pour la brucellose et 35,4 % pour la toxoplasmose. La technique de la PCR a détecté 24 % (67/280), 15,0% (42/280) respectivement de *Brucella spp.* et de *Brucella abortus* ainsi que 48,6 % (136/280) de *Toxoplasma gondii*.

Intérêt du diagnostic moléculaire des pathogènes intracellulaires : cas de la brucellose et de la toxoplasmose à Bamako.

Les résultats de cette étude montrent que cette technique de PCR pourrait être utilisée au Mali dans le diagnostic de routine de la brucellose et de la toxoplasmose.

**Mots clés :** Pathogènes intracellulaires, Diagnostic moléculaire, Brucellose, Toxoplasmose



## IDENTIFICATION SHEET

**Last Name:** TRAORE

**First Name:** Mariam

**TEL:** (00223) 71283507 **Email:** rimatraore44@gmail.com

**Title:** Interest of molecular diagnosis of intracellular pathogens: case of brucellosis and toxoplasmosis in Bamako.

**Academic Year:** 2018-2019

**City of defense:** Bamako-Mali

**Place of deposit:** Library of Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology

**Focus Area:** Molecular Biology, Parasitology, Bacteriology, Public Health,

### Abstract

Human brucellosis and toxoplasmosis are zoonotic diseases. In Africa these diseases are often overlooked or neglected for lack of consideration or simply for lack of appropriate diagnostic structures. The cause pathogens being intracellular, are difficult to demonstrate because they are not exposed to antibodies all the time. Molecular biology with the PCR technique can identify them in the body. Hence the interest of this study whose objective was to evaluate the contribution of molecular biology with respect to serology to the diagnosis of toxoplasmosis in Bamako, Mali.

It was a cross-sectional study of 280 patients who had been referred to the National Center for Support of Disease Control (CNAM) in Bamako (October 2015 - January 2016). The Toxo Screen DA kit (Bio Mérieux) and the Rose Bengal test (Bio Mérieux) were used for serology. The DNAs were extracted with the Qiagen mini Blood kit and the Salting out method. PCR was performed using the *vdcc* and *glk* markers for the detection of *Brucella spp.* and *Brucella abortus* and the *SAG 2* gene for the detection of *Toxoplasma gondii*. Diagnostic performance was established and the Chi2 statistical test with alpha equaled 5%.

Of the 280 samples analyzed, we found a serological prevalence of 3.6% for brucellosis and 35.4% for toxoplasmosis. The PCR technique detected 24% (67/280), 15.0% (42/280) of *Brucella spp.* and *Brucella abortus* and 48.6% (136/280) of *Toxoplasma gondii*.

The results of this study show that this PCR technique could be used in Mali in the routine diagnosis of brucellosis and toxoplasmosis.

**Key words:** Molecular diagnosis, intracellular pathogens, brucellosis, toxoplasmosis.



Q16. Le participant a-t-il été exposé à des risques connus pour cette maladie ?  1. Oui

2. Non

Q16- Si oui préciser les facteurs de risques :

Q16-a Eau de robinet , Q16-b Puits de forage , Q16-c Puits non protégé ,

Q16-d Puits Protégé , Q16-e. Rivière , Q16-f. Lac , Q16-g Mare , Q16-h Jarre

Q16-i. Autres  Préciser (Gobelet commun, Bidon) : \_\_\_\_\_

Q16-h. Types d'aliments : \_\_\_\_\_

Q16-i. Contact avec un animal : \_\_\_\_\_

Q16-j. Contact avec un agent environnemental : \_\_\_\_\_

Q16-k. Manipulation de produits d'origines animales contaminés : \_\_\_\_\_

#### **IV- Informations concernant le laboratoire**

Q17. Diagnostic biologique  1. Oui 2. Non Type de prélèvement : \_\_\_\_\_

Q18. Classification finale  1. Confirmé 2. Infirmé

#### **V- Information sur le traitement proposé par le médecin et suivi du participant :**

Q19. Traitement proposé par le médecin (per os, parentéral, Application...) :

\_\_\_\_\_

Q20. Etat du participant après le traitement  1. Amélioré, 2. Guéri, 3. Référé /Evacué, 4.

Autres : \_\_\_\_\_

Q21. Quels conseils le médecin a donné au participant et à sa famille :

\_\_\_\_\_

Q22. Contrôle de qualité fait par : \_\_\_\_\_ Q22-a. A la date : \\_\\_ \\_ \\_ \\_ \\_ \

(jj\mm\aaaa).

## Contribution de la biologie moléculaire dans le diagnostic de la toxoplasmose à Bamako - Mali - Bourse Fondation Pierre Fabre

Lassina Doumbia<sup>1</sup>, Youssouf Diarra<sup>1</sup>, Sidi Diallo<sup>2</sup>, Yacouba Koumare<sup>2</sup>, Mariam Traore<sup>1</sup>, Oumar Kone<sup>1</sup>, Lansana Sangare<sup>1</sup>, Djeneba Sylla-Sy<sup>1,2</sup>, Somita Keita<sup>2</sup> and Ousmane Koita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Faculté des Sciences et Techniques, Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA), Unité de zoonoses - Mali  
<sup>2</sup>Laboratoire biomédical du Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM) - Mali

La toxoplasmose est une maladie infectieuse avec une charge de morbidité mondiale considérable, surtout en Afrique. Elle est caractérisée par des séquelles neurologiques, ophtalmologiques, auditives et par des avortements chez les femmes. Au Mali, le diagnostic est basé sur la sérologie. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'apport de la biologie moléculaire par rapport à la sérologie au diagnostic de la toxoplasmose à Bamako, au Mali. Il s'agissait d'une étude transversale, portant sur 280 patients venus en consultation au Centre Nationale d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM) de Bamako (octobre 2015 - janvier 2016). Le kit Toxo Screen DA (Bio Mérieux) a été utilisé pour la sérologie. L'ADN de *T. gondii* était extrait avec le kit Qiagen mini Blood, la PCR était réalisé en utilisant les marqueurs SAG 2. Les performances diagnostiques ont été établies et le test statistique de Chi2 avec alpha égal 5%.

Parmi les 280 échantillons testés, 99 patients étaient positive à la sérologie soit 35,36%. Les hommes étaient plus exposés que les femmes soit 67,67% des 99 cas testés positifs. Parmi les 280 échantillons testés par la PCR, 136 étaient infectés par *T. gondii* soit un 48,57%. La sensibilité de la sérologie était de 21,32% et la spécificité 51,39%. Nous avons observé un polymorphisme moléculaire caractérisé par des fragments d'ADN de 134 et 315 paires de base.

Les résultats de cette étude montrent que cette technique de PCR pourrait être utilisée au Mali dans le diagnostic de routine de la toxoplasmose.

# SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement,

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine,

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels,

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure!