ETUDE DE LA SEROPREVALENCE ET CARACTERISATION GENETIQUE DE BRUCELLA ABORTUS CHEZ LES PATIENTS DE L'HOPITAL DERMATOLOGIQUE DE BAMAKO.

STUDY OF THE SEROPREVALENCE AND GENETIC CHARACTERIZATION OF BRUCELLA ABORTUS IN PATIENTS OF THE BAMAKO DERMATOLOGICAL HOSPITAL.

SIDI DIALLO[1], LASSINE DOUMBIA[1], YACOUBA KOUMARE[1], CATHERINE SAMARA[1], DJENEBA SY[1*], OUSMANE KOÏTA[2], SOMITA KEÏTA[3]

[1]Unité de zoonoses, Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA)/ Faculté des Sciences et Techniques et Hôpital dermatologique de Bamako (ex CNAM), Mali
[2]Faculté des Sciences et Techniques / USTTB, Colline de Badalabougou, Bamako
[3]Hôpital dermatologique de Bamako (ex CNAM), Mali

Auteur correspondant : Dr Djeneba Sy, Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA) / Unité de zoonoses, syllasyd@yahoo.fr

Résumé

La brucellose, aussi appelée fièvre de Malte, est causée par une bactérie du genre Brucella qui vit naturellement chez les animaux, c'est un petit coccobacille à gram négatif, immobile, non sporulé et aérobie stricte. La Brucellose est une maladie à déclaration obligatoire.
La brucellose humaine se rencontre surtout dans les professions exposées mais peut également frapper le reste de la population, suite à une contamination par voie digestive en consommant du lait, la viande mal cuite provenant d'un animal malade, ou lors de manipulation des liquides organiques et les tissus d'animaux contaminés.
La présente étude transversale a pour objectif spécifique de déterminer la prévalence sérologique de cette zoonose en utilisant la technique de l'agglutination sérologique de l'antigène tamponné au Rose Bengale, de faire une caractérisation génétique des échantillons de sang positifs aux brucelles en utilisant la technique moléculaire de polymérisation en chaîne ou PCR, permettant de déterminer spécifiquement les souches de brucellose en cause.
Les résultats ont donné sur un total de 280 échantillons de sérum testés, 10 sérums positifs avec un pourcentage de 3,57 dont 3 hommes et 7 femmes avec des tranches d'âge entre de 18-57 ans chez les femmes et 57-60 ans chez les hommes.
Les résultats de la PCR ont donné 2 souches de brucella, Brucella spp. et Brucella abortus. Sur un total de 10 échantillons, 3 sont positifs Brucella spp. et 2 à B. abortus avec comme contrôle positif B. abortus.

Mots clés : Zoonoses, Brucellose, Rose Bengale, PCR.

Abstract

Brucellosis, also called Malta fever, is caused by bacteria of the genus Brucella which lives naturally in animals ; it is a small bacillus Gram-negative, immobile, non-spore forming and strictly aerobic. Brucellosis is a notifiable disease.
Human brucellosis is found mainly in exposed occupations but can also hit the rest of the population due to contamination from the gastrointestinal tract by consuming milk, undercooked meat from an infected animal, or when handling body fluids and tissues of infected animals.
This cross-sectional study to determine the specific objective of serological prevalence of this zoonosis using the technique of serological agglutination buffered antigen Rose Bengal. to make a genetic characterization of the Brucella-positive blood samples using the molecular polymerase chain or PCR technique, specifically to determine the brucellosis strains involved.
The results gave a total of 280 serum samples tested, 10 positive samples with a percentage of 3.57 including 3 males and 7 females, with age ranges between 18-57 years for women and 57-60 years for men.
The results of the PCR gave 2 strains of Brucella, Brucella spp. and B. abortus. Out of a total of 10 samples, 3 are positive for B. spp and 2 for B. abortus with a positive control of B. abortus.

Keywords : Zoonoses, Brucellosis, Rose Bengal, PCR.

1. Introduction

La brucellose, aussi appelée fièvre de Malte, est causée par une bactérie du genre Brucella qui vit naturellement chez les animaux, c'est un petit coccobacille à gram négatif, immobile, non sporulé et aérobie stricte. La Brucellose est une maladie à déclaration obligatoire. (Vallat B. Blancou J. et al. 2009)

La brucellose humaine se rencontre surtout dans les professions exposées mais peut également frapper le reste de la population, suite à une contamination par voie digestive en consommant du lait, la viande, les œufs mal cuits provenant d'un animal malade, ou lors de manipulation des liquides organiques et les tissus d'animaux contaminés. (Sy D., Tounkara K. et al. 2004)

La synthèse des réponses à un questionnaire envoyé aux Membres de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA) permet d'avoir une meilleure connaissance des pratiques locales en matière d'élevage et de gestion de la santé animale, mais aussi d'avoir des informations sur les infections brucelliques dues à Brucella abortus, Brucella melitensis et Brucella suis et sur les possibilités de diagnostic de la brucellose dans les différents pays et de se faire une idée sur l'importance économique et hygiénique de cette affection. L'enquête a révélé que 25 des 29 pays qui ont participé à l'enquête, la brucellose ne fait pas l'objet d'une surveillance épidémiologique dans plus de la moitié des pays enquêtés ; la brucellose bovine retient néanmoins beaucoup plus l'attention que celle des autres espèces animales. La prévalence chez les bovins va de 0,034 % au Botswana à 30 % au Niger. Chez les petits ruminants, elle varie de 0,1 à 12,5 %. La prévalence de l'infection chez l'homme n'est signalée que dans quelques pays et, à une exception près, elle est négligeable (Akakpo AJ., Assiongbon TAA. et al 2009).

Au Mali, Dans le cadre de la brucellose, une étude a été effectuée sur la survie de Brucella abortus dans le lait fermenté. Les études consistaient à tester quotidiennement pendant 7 jours la survie de Brucella abortus, Les différents résultats donnent au jour de la collecte une invisibilité des colonies, elles apparaissent au premier jour et atteignent leur pic au deuxième et au troisième jour des tests. Il y a une diminution des colonies au quatrième jour avec un pH acide de 4. Les sixième et septième jour il n'y a plus de brucelles. Ceci indiquant que la fermentation du lait, n'offre pas non plus une garantie de sécurité sanitaire contre la brucellose (Ferreira RM., Harizi K. et al1995).

La brucellose est une maladie d'expression très polymorphe, à rechute ou d'évolution prolongée avec : fièvre et sueurs profuses, amaigrissement avec des manifestations au niveau ostéo musculaire et les symptômes génitaux urinaires. On distingue les formes de brucellose inapparentes, septicémiques, localisées, à rechute ou d'évolution prolongée et la forme chronique ou la « patraquerie brucellienne » (Cagnolati V. 2009, Chabasse D., Roure C. et al. 1983, Vahhab P., Malike S.et al. 2015).

Dans le cadre de la brucellose, une étude a été effectuée sur la survie de Brucella abortus dans le lait fermenté. Les études consistaient à tester quotidiennement pendant 7 jours la survie de Brucella abortus. Les différents résultats donnent au jour de la collecte une invisibilité des colonies, elles apparaissent au premier jour et atteignent leur pic au deuxième et au troisième jour des tests. Il y a une diminution des colonies au quatrième jour avec un pH acide de 4. Les sixième et septième jour il n'y a plus de brucelles. Ceci indiquant que la fermentation du lait, n'offre pas non plus une garantie de sécurité sanitaire contre la brucellose (Ferreira RM., Harizi K. et al1995).

L'étude prospective de la séroprévalence de la Brucellose auprès des personnes tous venants à l'Hôpital Dermatologique de Bamako (ex CNAM) a pour but de déterminer la prévalence, et de montrer la recrudescence de cette maladie.

La présente étude a pour objectif spécifique de déterminer la prévalence sérologique de cette zoonose en utilisant la technique de l'agglutination sérologique de l'antigène tamponné au Rose Bengale, de faire une caractérisation génétique des échantillons de sang positifs aux brucelles en utilisant la technique moléculaire de polymérisation en chaîne classique ou PCR, permettant de déterminer spécifiquement les souches de brucellose en cause.

Les résultats ont donné sur un total de 280 échantillons de sérum testés, 10 sérums positifs avec un pourcentage de 3,57 dont 3 hommes et 7 femmes avec des tranches d'âge entre 18-57 ans chez les femmes et 57-60 ans chez les hommes. Les résultats de la PCR ont donné 2 souches de brucella, Brucella spp. et Brucella abortus. Sur un total de 10 échantillons, 3 sont positifs à Brucella spp et 2 à Brucella abortus avec un contrôle positif Brucella. abortus.

2. Matériels et Méthode

L'étude a été réalisée dans la commune IV du District de Bamako, au niveau de l'hôpital dermatologique de Bamako (ex Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie). Cette étude prospective transversale s'est étalée sur une période de 6 mois.
Dans ce protocole ont été inclus les tous venants patients ou non, après leur consentement éclairé et pour les moins de 18 ans et les personnes âgées l'assentiment éclairé, sans spécificité de tranche d'âge, de sexe, d'ethnie, de profession et de religion. Ont été exclus de ce protocole les patients ou non patients non consentants et les parents et accompagnants n'acceptant pas de signer l'assentiment.
Pour ce modèle d'enquête fondé sur un échantillonnage aléatoire simple, on a calculé la taille d'échantillon requise en appliquant la formule suivante de Schwartz. (Françoise Lafont 2020)

Formule :

$$\mathbf{n} = \frac{\mathbf{t^2} \times \mathbf{p(1-p)}}{\mathbf{m^2}}$$

Explication :
n = taille d'échantillon requise
t = niveau de confiance à 95% (valeur type de 1,96)
p = prévalence estimative de la brucellose (5,14%)
m = marge d'erreur à 5% (valeur type de 0,05)

$$\mathbf{n} = \frac{1.96^2 \times .5{,}14(1-5{,}14)}{.05^2}$$

n = 326.99 ~ **327**

Avec cette formule la taille de l'échantillon est d'environ 327 patients. Durant 3 mois au moins 16 patients seront enquêtés et prélevés par jour (du lundi au vendredi) au niveau des Services de Biologie du CNAM.

Les sérums seront collectés au niveau du laboratoire, et seront diagnostiqués par le kit d'agglutination sérologique au **Rose Bengale** et sang total, sérum/plasma pour la RT-**PCR**. Le Rose Bengale est un test pour le sérodiagnostic de la brucellose par agglutination sur carte (Antigène Rose Bengale). L'antigène tamponné sera ajouté aux sérums récoltés, dont une

goutte est déposée sur la carte. Le ***test au Rose Bengale*** (RBT) consiste à : une **agglutination rapide sur carte de sérum pur avec un antigène colore et a pH 3,6**. C'est l'épreuve de base, le RBT est un test économique, simple et rapide, donnant peu de faux résultats négatifs ou positifs. Les immunoglobulines responsables de la réaction sont les IgG, et parfois les IgM en fonction du mode de préparation de l'antigène. Ce test dépiste l'infection plus précocement.

En plus des tests sérologiques, le test fondamental pour la caractérisation génétique des souches de Brucella des patients positifs est fait par la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) en temps réel. La méthodologie suivante a été appliquée :

Méthode de diagnostique validée au LBMA

Nature du prélèvement :

- Sang total sur tube EDTA.
- Quantité minimale : 5 ml (sang total)
  1 ml (sérum/plasma)
- **Méthode de PCR :** classique**,** la migration des échantillons est faite sur gel d'agarose et l'observation sur planche à UV/

PCR classique

Hotte BSL II **Thermo cycler PCR** **Lecture électrophorèse**

Fig. I : Etapes de préparation des échantillons de sérums pour le test sérologique de détection des anticorps contre la brucellose.

De gauche a droite et en bas :

-Cabine de manipulation stérile pour la préparation des échantillons
-Appareil pour la Reaction de Polymérisation en Chaine (PCR)
ou Thermocycleur permettant la caractérisation génétique des échantillons
- Etuve et micro-onde pour la préparation des gels
-Chaîne pour la lecture des sérums testes par la technique immuno-enzymatique (ELISA : Enzyme Linked Immunosorb Essay)

Deux marqueurs moléculaires ont été utilisés pour la caractérisation génétique, il s'agit :

- Le gène *vdcc*: qui code pour le transport des coenzymes et le métabolisme pour identifier le genre Brucella.

- Le gène *glk*: qui code à une enzyme 'glucokinase' pour distinguer l'espèce *B. abortus.*

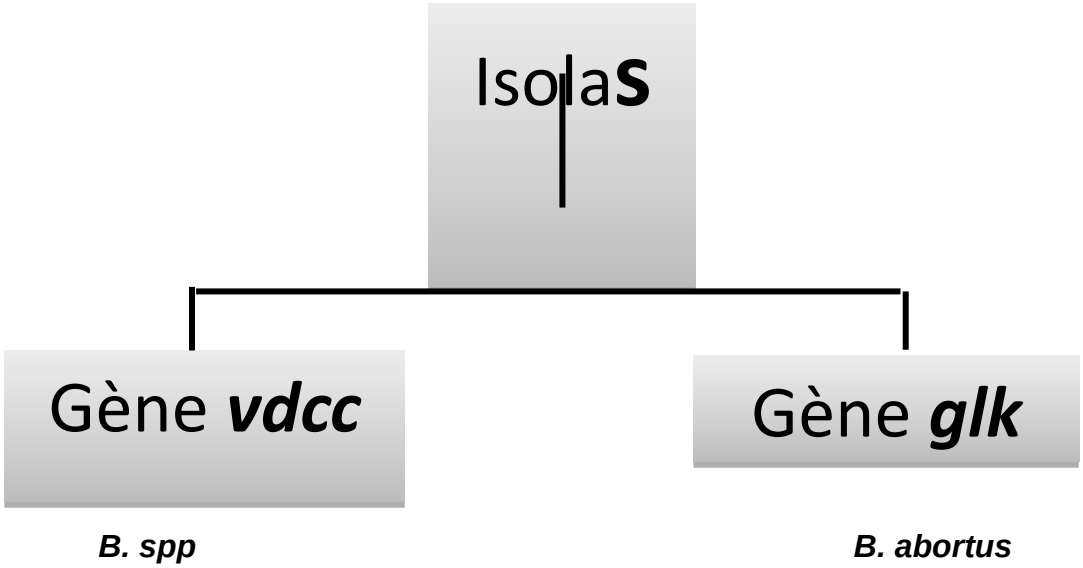
Tableau 1: Séquence génomique pour la détection des deux souches de Brucelles

Souches	Sens	Amorces (5'−3′)	Gène	Taille bp
B. spp.	F	GTGGCGATCTTGTCCG	*vdcc*	67
	R	ACGGCGATGGATTTCCG-		
B. abortus	F	GACCTCTTCGCCACCTATCTGG	*glk*	164
	R	CCTTGTGCGGGGCCTTGTCCT		

Vahhab Piranfar & al. 2015 Procédure (8)

Procédure :

- Echantillon (s) à tester
- Control +
- Contrôle
- Kit réactif rose bengal (*B. abortus*)
- Kit extraction génomique et PCR
- H_2O ultra pure.



Revue Malienne de Science et de Technologie – ISSN 1987-1031 - Vol. 04 No 01 (Janvier-Juin 2024)
Série A : Sciences Naturelles, Agronomie, Techniques et Sciences de l'Ingénieur
Editeur : CNRST, Bamako, Mali

3. Résultats

Les différents résultats obtenus seront donnés dans les tableaux et figures qui suivent :

Résultats de la sérologie :

Tableau 2: Résultat sérologique général de la Brucellose des patients consultants ou non

Nombre total d'échantillons recueillis	**Nombre d'échantillons positifs**	**% de positivité**	**Taux de morbidité en %**	**Provenance des patients**
280	10	3,57	0,04	Bamako 1,07%, Kayes 0,36%, Koulikoro0,36%, Sikasso0,36% , Ségou0,36% , Mopti 0,36%, Tombouctou 0,36% et Côte d'Ivoire 0,36%

% : Pourcentage

Les résultats donnent 3,57% de positivité à la brucellose tous patients ou non confondus, avec un nombre total de 112 femmes et de 168 hommes.

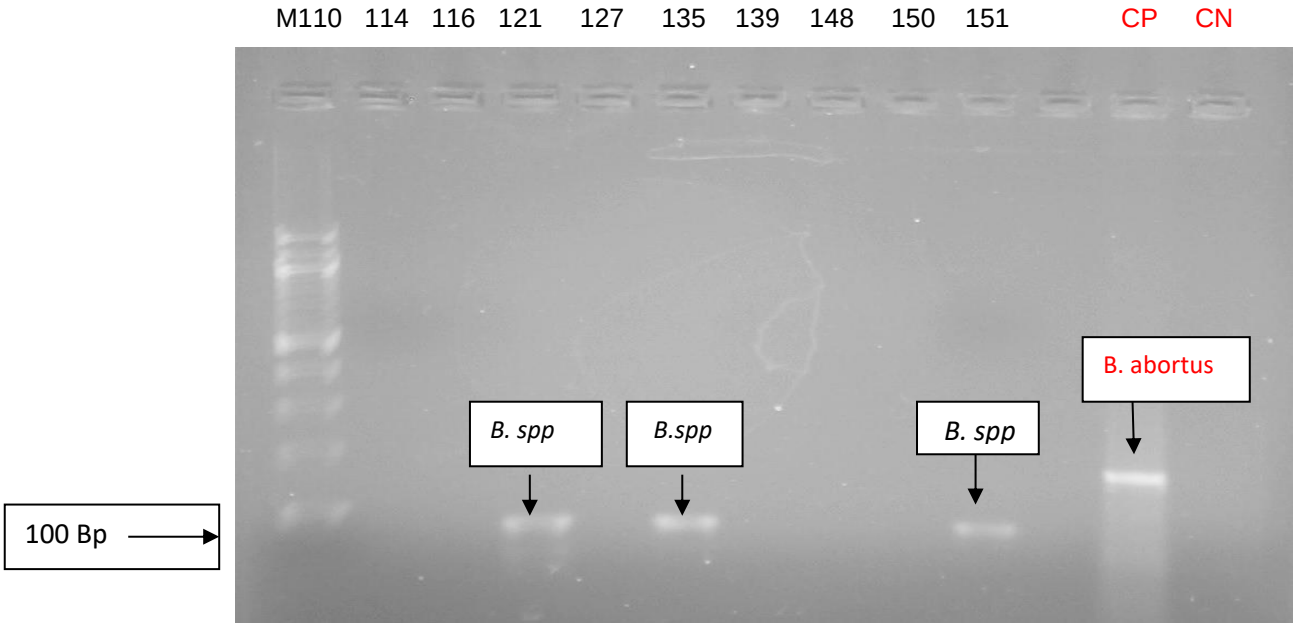
Tableau 3 : Résultats sérologiques positifs par sexe de la Brucellose des patients consultants ou non du CNAM

	Positifs	**% positifs**	**Tranche d'âge**	**Provenance**
Echantillon total positif	10	100	18 – 60 ans	Bamako 30%, Kayes 10%, Koulikoro10%, Sikasso10% , Ségou10% , Mopti 10%, Tombouctou 10% et Côte d'Ivoire 10%
Nombre de femmes	7	70	18 -57 ans	Bamako 20%, Koulikoro10%, Sikasso10%, Ségou10%, Mopti 10%, et Côte d'Ivoire
Nombre d'hommes	3	30	57 – 60 ans	Bamako 10%, Kayes 10%, Tombouctou 10%

% : Pourcentage

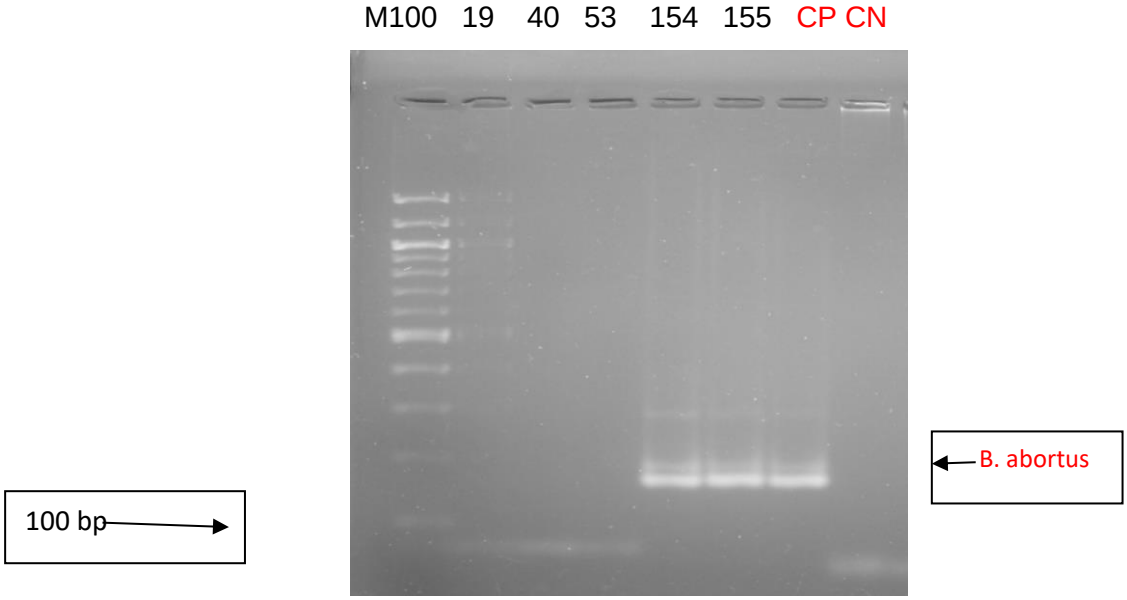
Les résultats donnent 70% et 30% pour les femmes et les hommes respectivement, avec une provenance en majorité du District de Bamako.

Résultats de la RT-PCR :



M : marqueur 100 **CP** : contrôle positif (*Brucella abortus*) **CN** : contrôle négatif
Echantillons positifs : 121, 135 et 151 à *Brucella spp.*

Figure 2 : Résultat des échantillons positifs à la PCR
Les numéros des différents échantillons positifs sus cites ont été migres sur gel d'agarose colores à la fluorescéine avec les contrôles positif et négatif. Les gels sont après ont été observés sur plaque luminescence à UV. La souche de *Brucella spp*. A un poids moléculaire qui dépasse le les 100 paires de base et avoisine les 120 paires de base, plus lourd que *Brucella abortus*.



M : marqueur 100 **CP** : contrôle positif **CN** : contrôle négatif
Echantillons positifs : 154, 155 à *B. abortus*
Figure 3 : Résultat des échantillons positifs à la PCR de *B. abortus*

Les numéros des différents échantillons positifs sus cites ont été migres sur gel d'agarose colores à la fluorescéine avec les contrôles positif et négatif. Les gels sont après ont été observés sur plaque luminescence à UV. La souche de *Brucella abortus*. A un poids moléculaire de 100 paires de base, moins lourd que *Brucella spp*.

Tableau 4: **Répartition des échantillons en fonction de la détection du gène pour *B. spp* et du gène pour *B. abortus***

Résultats	***Brucella spp***		***Brucella abortus***	
	#	(%)	#	(%)
Positif	67	(**24**)	42	(**15**)
Sexe	F :47 - H : 20	(70/20)	F : 29 - H :13	(70/20)
Négatif	213	(76)		
Total	280	(100)		

Brucella spp était la plus fréquente avec 24 % des cas, il y a une différence statistiquement significative par rapport à la détection de *Brucella abortus* (15 %) $p < 0,01$; $Chi2 = 7,12$ ddl = 1.

4. Discussion

La brucellose est une maladie connue en Afrique depuis très longtemps, tant chez les animaux que chez l'homme, comme le montre une étude réalisée par Akakpo et coll. . C'est une maladie qui évolue sur un mode chronique et dont il est difficile d'évaluer l'importance avec le mode d'élevage dominant qui est la divagation, la transhumance et le nomadisme. Toutefois, les Services vétérinaires officiels commencent à s'intéresser à cette maladie, suite au contrôle de la plupart des grandes épizooties qui décimaient le bétail (peste bovine, péripneumonie contagieuse, etc.) et à l'intensification de l'élevage à des fins de production laitière dans beaucoup de pays d'Afrique subsaharienne. La brucellose est une maladie à déclaration obligatoire chez les bovins, les petits ruminants et les porcins (Akakpo AJ., Assiongbon TAA. et *al* 2009)

Généralement les pays sahéliens de l'Afrique de l'Ouest (Mauritanie, Mali, Niger, Burkina Faso, etc.) exportent vers les pays côtiers de la même zone, et la part du budget de l'Etat consacrée à l'élevage et aux contrôles sanitaires est relativement faible dans la plupart des pays. Selon l'article sur l'impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique, les données recueillies de l'analyse du questionnaire révèlent que le cheptel bovins, ovins, caprins et porcins sont sous contrôle vétérinaire officiel dans 25 des 29 pays qui ont participé à l'enquête. Toutefois, la brucellose dans plus de la moitié (15/29) des pays enquêtés ne fait pas l'objet d'une surveillance épidémiologique. Le résultat obtenu montre que la vigilance s'exerce beaucoup plus vis-à-vis des bovins que des autres espèces animales et de l'homme. Ainsi la prévalence moyenne de la brucellose bovine dans 21 pays, va de 0,034 % au Botswana à 30 % au Niger. On dispose de beaucoup moins de données pour les ovins, caprins, porcins et pour l'homme. La Guinée révèle des prévalences significatives de 12,5 % chez les petits ruminants

et de 30 % chez l'homme. Il serait bon de connaître la technique d'exploration utilisée (Akakpo AJ., Assiongbon TAA. et *al* 2009).
Le résultat de 3,57% obtenu lors de cette enquête prospective sérologique et moléculaire, suppose fortement un problème de santé publique au niveau du péri- urbain et le district de Bamako par rapport à la Brucellose, à cause des symptômes d'avortement et d'infertilité lors d'infection par cette bactérie.
En effet si l'on tient compte de la fièvre récurrente et des conséquences sur la reproduction, un pourcentage minimal même de 1% dans le cas de la brucellose est significatif, vue que c'est une maladie à déclaration obligatoire.
Les différents résultats ont été analysés en fonction de la séroprévalence positive et du sexe, il ressort de cette analyse, que le nombre de positifs est de 10 personnes sur un total de 280. Il faudra noter dans ce résultat que les femme sont plus touchées que les hommes a raison de 70% contre 20%, cet écart peut s'expliquer par une manipulation plus fréquente des produits animaux par les femmes lors des préparations L'échantillonnage total de 327 patients n'a pu être obtenu suite à des difficultés d'inclusion des personnes liée à des préjugés, au manque de sensibilisation et aussi sans nul doute à la faible compensation des patients consentants du fait du montant alloué par le budget national par protocole de recherche. Malgré ces différentes difficultés, un pourcentage d'inclusion significatif de 85, 63% a été obtenu.

Ces résultats ont montré également un pourcentage de positivité faible chez les hommes par rapport aux femmes, de l'ordre de 30% et de 70% respectivement. Ceci est un point qui doit être développé en tenant compte de la profession (métiers à risque comme la laiterie), l'habitat (environnement d'élevages bovins ou de petits ruminants) de ces personnes positives.
On notera que la tranche d'âge avancée suppose une consommation de lait et de viande contaminés ou une manipulation de viande ou de produits laitier contaminés. Le nombre élevé de femmes positives au test pencherait plutôt pour une manipulation de viande, de lait et de produits laitiers contaminés. Il serait souhaitable que les patients positifs aillent faire d'autres tests de confirmation, comme l'ELISA (test sérologique).
En poussant les investigations les échantillons positifs ont été testés par l'ELISA dans l'unité de zoonoses du laboratoire de biologie moléculaire appliquée au niveau de la Faculté des Sciences et Techniques (FST), le même laboratoire a fait la caractérisation des échantillons positifs par la technique de la Réaction de Polymérisation en Chaîne classique (PCR).
Les résultats donnent les mêmes 10 échantillons positifs au test sérologique de l'ELISA. La caractérisation donne 2 souches de *Brucella, Abortus et Spp.* La première est une souche de brucellose bovine (B. abortus) et la deuxième est plus rencontre chez l'homme mais doit être séquencée pour déterminer la souche, pour connaitre l'espèce animale en cause dans l'infection de ces personnes.

Cette étude n'a eu lieu qu'a l'hôpital dermatologique, ex-CNAM, des enquêtes au niveau de d'autres sites sanitaires du District de Bamako, dans la zone périurbaine de Bamako et dans les régions avec un cheptel important, nous permettrons de mieux mesurer l'ampleur de l'infection et de prendre des dispositions pour une meilleure prophylaxie.

5. Conclusion

La caractérisation moléculaire a permis de connaitre les différentes souches impliquées dans la brucellose chez les patients positifs. Les différentes études dans les futurs protocoles ne devraient pas se limiter seulement à la détection et à l'identification des souches. Cette recherche doit être complétée par le séquençage génomique, pour typer les souches, ce typage permettra de développer des molécules curatives et les vaccins spécifiques.

La Brucellose étant une maladie à déclaration obligatoire, ce résultat de 3,7% obtenu par des techniques de référence de biologies appliquées comme le rose bengale et fondamentale comme la polymérisation en chaine, doit être pris sérieusement en considération sur le plan santé publique. Ceci en tenant compte de nos modes d'élevage, de nos habitudes alimentaires et de us et coutumes.
Le caractère invalidant, récurent et abortif aussi bien chez les animaux que chez l'homme de la maladie, font qu'elle mérite une attention particulière aussi bien sur le plan préventif que dans la prise en charge médicale.

Références

1-Akakpo A.J.et Bornarel P. 1987 : Epidémiologie des brucelloses animales en Afrique tropicale : Enquêtes clinique, sérologique et bactériologique. Rev.sci.tech. Off. Int. Epiz. 6 (4), 981-1027.

2- Akakpo AJ., Assiongbon TAA., Philippe K. 2009 : L'impact de la brucellose sur l'économie et la santé publique en Afrique, Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires. Conf. OIE (OMSA), 71-84.

3-Cagnolati V. 2009 : Faire face aux problèmes sanitaires d'origine animale et humaine : une priorité mondiale et régionale. Bureau Inter Africain des Ressources Animales de l'Union Africaine (UA- BIRA) (Rapport).

4-Chabasse D., Roure C., Rhally AA. 1983 : Evaluation du statut sanitaire des populations Nomadiques et semi Nomadique dans la zone du Gourma au Mali, approche épidémiologique. Med. Trop., 43 (2), 127-135.

5- CIRAD. Article de période, 2007 : Mieux vendre le lait. Pages 56-57

6-Ferreira RM.1995 : La brucellose, Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, Vol. 78, 5 Bis, 795- 800 (réf.19).

7-Lafont F. : Méthodes d'échantillonnage aléatoires et non aléatoires. 2020 [en ligne]. https://Blog logiciel questionnaire-pro.

8- Piranfar.V, Malike S., Hashemi M., Vahdati AR., Mirnejad R. 2015: 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, Sept Vol. 18, No. 9.*

9-Sélection de publication des agents du CIRED. Ed. 2006-2007.

10-Sy D., Tounkara K. Diarra A., Mangane O. 2004 : Prévalence de la tuberculose et de la Brucellose bovine dans certains élevages laitiers périurbains de Ségou, San et Niono. Revue malienne de science et de technologie, Sept N°6, 64-72.

11-Tasei JP, Rangue P., Balique H, Traore A., Quilici M.1982 : La brucellose humaine au Mali. Results of a sero- epidemiological study. Acta...Trop. Sep, 39, 253-64.

12- Vallat B. Blancou J. 2009 : La progression passée, présente et à venir des épizooties et des zoonoses : surveillance et moyens de lutte. Bull. Acad. Vet. France, Tome 162, N°1, 65- 7