



# **BRUCELLOSE CAPRINE. I. - BACTÉRIOLOGIE ET SÉROLOGIE D'UN TROUPEAU DE CHÈVRES OBSERVÉ PENDANT DEUX ANS ET DEMI**

G. Renoux

## **► To cite this version:**

G. Renoux. BRUCELLOSE CAPRINE. I. - BACTÉRIOLOGIE ET SÉROLOGIE D'UN TROUPEAU DE CHÈVRES OBSERVÉ PENDANT DEUX ANS ET DEMI. Annales de zootechnie, 1961, 10 (4), pp.233-277. <hal-00886761>

**HAL Id: hal-00886761**

**<https://hal.science/hal-00886761v1>**

Submitted on 11 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

## BRUCELLOSE CAPRINE

### I. — BACTÉRIOLOGIE ET SÉROLOGIE D'UN TROUPEAU DE CHÈVRES OBSERVÉ PENDANT DEUX ANS ET DEMI

G. RENOUX (1)

Faculté de Médecine, Montpellier (Hérault)

#### SOMMAIRE

Des investigations bactériologiques et sérologiques relatives à l'infection par *Br. melitensis* sont effectuées sur 59 chèvres tunisiennes, certainement indemnes de Brucellose avant l'expérience, pendant une période de 2 ans 1/2.

Les techniques employées, décrites en détail dans le texte, sont les cultures du sang, du lait, des sécrétions vaginales, des échantillons prélevés après autopsie ; les réactions sérologiques (agglutination, fixation du complément, anticorps bloquant ou incomplet) et l'agglutination par le lactosérum.

8 707 cultures sont faites avec 6 950 échantillons : 336 sont positives pour *Brucella*. 2 075 colonies de *Brucella* ont été identifiées. 9 149 réactions sérologiques sont pratiquées sur 3 287 sangs ou laits.

46 chèvres sont infectées par voie conjonctivale avec  $2 \times 10^6$  *Br. melitensis*, souche 53 IL38 (nombre de D. 1,50 compris entre 4 et 10) ; la maladie ainsi créée ne sera pas différente de la maladie naturelle.

9 mois plus tard on ajoute 13 autres chèvres indemnes à ce troupeau. Les fécondations sont assurées par 4 boucs (3 vaccinés, 1 neuf).

Le premier signe certain de Brucellose parmi les chèvres « contact » apparaît 5 mois après ce mélange et 12 jours après un avortement dans le premier groupe. Cependant, pendant la période de mélange des 2 groupes, on avait constaté l'élimination fréquente de *Br. melitensis* par le lait ou les lochies de chèvres « infectées ». Donc, l'infection des chèvres entre elles nécessite une élimination vraiment massive de *Br. melitensis* dans le troupeau, telle qu'elle peut être obtenue au moment d'avortements.

Les résultats obtenus sont :

1° 8 chèvres ont résisté à l'infection brucellique qui n'est démontrée que par des anticorps sériques.

2° 18 chèvres ont guéri après une maladie de 15 à 18 mois (cultures positives pendant leur vie et négatives après l'autopsie). L'aptitude à la guérison spontanée est propre à certaines chèvres, elle dépend de l'intensité de l'infection brucellique et de la durée de l'observation.

3° 17 chèvres sont infectées par *Brucella*, d'après les résultats des gestations et des autopsies. Pendant leur vie, ni sang, ni lait, ni sécrétion vaginale n'ont fourni de cultures positives.

4° 16 chèvres ont donné des cultures positives pendant leur vie et après autopsie.

5° Les 33 chèvres, décrites aux paragraphes 3 et 4 ci-dessus, peuvent être considérées comme des porteurs chroniques de *Brucella*.

6° Les résultats des cultures après autopsie démontrent :

A. — La nécessité de multiplier le nombre des échantillons de tissus ou d'organes mis en culture ; en effet, 13 chèvres ne sont positives que par la culture d'un seul échantillon (rate, poumon, foie, mamelle, divers ganglions lymphatiques).

B. — La nécessité de multiplier les techniques de culture ; les résultats obtenus après ensemencement par frottis d'une tranche de section ou broyage individuel de l'échantillon coïncident rarement. L'ensemencement en masse après broyage collectif de l'ensemble des échantillons prélevés

(1) Ancien Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis où ces expériences ont été faites grâce à l'aide de F. A. O. et de O. M. S.

démontre la présence de *Brucella* chez un animal que les autres techniques d'ensemencement laissent supposer négatif.

6° C. — Si le nombre d'échantillons est limité, quel que soit le choix des lieux de prélèvements, il sera impossible d'affirmer qu'un animal était indemne de Brucellose.

D. — *On ne peut absolument pas conclure de la présence d'une seule culture positive post-mortem à l'imminence de la guérison de l'animal s'il eût vécu.*

7° La bactériémie brucellique, recherchée par des prélèvements hebdomadaires est peu fréquente : seulement 1,5 p. 100 des échantillons sont positifs. En moyenne, chez les chèvres positives, cette bactériémie apparaît entre 7 et 8 semaines après l'infection et dure 6 semaines. Même dans le cas d'un avortement subséquent, jamais l'hémoculture n'est positive au-delà du 5<sup>e</sup> mois qui suit l'infection.

8° 11 placenta seulement ont été mis en culture : 9 d'entre eux contenaient *Br. melitensis*.

9° Près de 30 p. 100 des chèvres éliminent *Br. melitensis* par les sécrétions vaginales. Un à 11 échantillons par chèvre sont positifs.

*La plupart des chèvres excrètent Br. melitensis par le vagin bien avant la parturition.* Chez 9 chèvres cette excrétion précède la mise bas de 7 à 63 semaines et n'est plus constatée après le part. La présence de *Br. melitensis* dans les sécrétions vaginales peut être continue pendant 33 semaines.

10° Plus de 27 p. 100 des cultures de lait sont positives. Avec le lait de chèvre, l'ensemencement du culot de centrifugation fournit des résultats très supérieurs à ceux de l'ensemencement de la crème. L'excrétion de *Br. melitensis* par le lait peut être irrégulière, brève ou chronique (durant jusqu'à 5 mois). *Br. melitensis est fréquemment présent dans le lait 34 à 114 semaines avant toute fécondation.*

L'agglutination du lactosérum est négative dans 3 p. 100 des échantillons de lait bactériologiquement positifs. A l'inverse, une lacto-agglutination positive n'indique pas forcément la présence de *Brucella* dans l'échantillon. Il n'y a pas de corrélation entre la présence d'agglutinines dans le sang et dans le lait ; cependant il semble qu'il y ait quelque rapport entre sensibilisatrice dans le sang et agglutinine dans le lait. Aucune culture de lait n'est positive quand toutes les réactions sérologiques (sang ou lait) sont négatives.

11° Identifications : la grande majorité des colonies isolées et identifiées correspond à *Br. melitensis*, smooth.

Mais, les colonies isolées *post-mortem* de 3 chèvres et du lait d'une 4<sup>e</sup> ont des caractéristiques « atypiques » surtout antigéniques qui les rapprochent de *Br. ovis*, Buddle, dont elles ne diffèrent que par leur développement en l'absence de gaz carbonique. Pour 3 de ces chèvres on avait isolé, d'autres sources, des colonies typiques de *Br. melitensis* smooth.

12° Épreuves sérologiques.

A. — Quel que soit le titre, la 1<sup>re</sup> réaction sérologique positive n'est observée que 3 à 5 semaines après l'infection. Quelques chèvres avaient été bactériologiquement positives avant l'apparition d'anticorps sériques. Dans bien des cas, il eût fallu attendre plusieurs mois avant de trouver un titre significatif d'agglutinine ou de sensibilisatrice.

B. — On peut décrire au moins 9 types de courbes sérologiques au cours de la Brucellose caprine. On peut constater : la disparition de l'agglutinine pendant plusieurs semaines ; des fixations du complément positives alors que l'agglutination est négative, ou vice-versa ; les titres d'agglutination peuvent rester faibles (autour de 25 Unités internationales) pendant toute la durée de la maladie. On n'a pas trouvé d'anticorps sériques chez 7 chèvres pendant le cours de leur maladie, bien qu'elles soient bactériologiquement infectées.

C. — Le phénomène de zone dans l'agglutination est propre à certaines chèvres ; il est dû à la présence concomitante d'anticorps incomplet.

D. — Le phénomène de zone dans la fixation du complément est très peu fréquent ; il est propre à certaines chèvres et sans relations avec celui constaté dans l'agglutination.

E. — L'anticorps bloquant n'apparaît, en général, pas plus précocement que l'agglutinine ou la sensibilisatrice ; il persiste pendant les périodes où l'agglutination est négative ; au moment de la mort de l'animal, cet anticorps incomplet peut être présent ou absent sans relation avec le statut bactériologique de la chèvre.

F. — Il y a peu ou pas de corrélation, chez les chèvres, entre le titre de l'agglutination et l'existence d'une culture positive à la même date. Il semble qu'une telle corrélation existe avec la réaction de fixation du complément.

G. — Le titre d'agglutination correspondant à la présence de 50 Unités internationales d'anticorps est significatif pour la brucellose caprine ; une déviation du complément à un titre égal ou supérieur à 1 : 4 et un titre d'anticorps incomplet égal ou supérieur à 1 : 10 sont, l'un et l'autre, également significatifs.

H. On peut raisonnablement penser que la combinaison de ces trois réactions permet de détecter la Brucellose chez 90 p. 100 des chèvres ; à l'exception, toutefois très importante, des jeunes chèvres infectées *in utero* qui restent négatives à tous les examens sérologiques.

## I. — INTRODUCTION

La disparition complète de la Brucellose est un but idéal qui n'apparaît plus hors de portée.

La Brucellose est, de toutes les maladies communes à l'homme et aux animaux, celle qui exerce le plus de ravages : pertes en viande et en lait, génératrices de diminutions sévères des revenus des éleveurs, causes de malnutrition amoindrissant la résistance de l'homme à d'autres maladies ; du fait de ces pertes, élevage extensif d'où une utilisation médiocre des terres, d'où gaspillage de fourrages et aussi insuffisance des fumiers empêchant une fertilité correcte ; maladie de l'homme avec son cortège de douleurs et de misères et un nombre considérable de journées de travail perdues.

L'importance de ces pertes ne saurait être sous-estimée quel que soit l'élevage considéré. On a récemment souligné le préjudice important causé par la Brucellose au cheptel bovin français : dans certaines régions plus de 50 pour cent des animaux examinés sont brucelliques.

La présente étude correspond à d'autres préoccupations. Le rôle néfaste de la Brucellose est relativement plus grand dans ces régions semi-désertiques où l'élevage des petits ruminants est l'unique ressource des habitants.

A une époque où joue la solidarité internationale et l'aide des nations les mieux pourvues à celles qui sont en voie de développement, il nous paraît important de considérer avec une certaine priorité les moyens qui assurent à la fois l'amélioration de la vie quotidienne et de la santé : la lutte contre la Brucellose est l'un d'eux.

Les réservoirs sauvages des *Brucella* n'ont pour l'instant qu'une part mineure dans la conservation ou l'expansion de la maladie. Cependant il ne faudrait pas oublier complètement leur existence : la plasticité des *Brucella* et le destin aventureux des maladies infectieuses pourrait amener un jour les animaux sauvages à jouer un rôle important dans l'épidémiologie de la Brucellose (RENOUX, 1957 c).

Récemment, des mises au point de l'état des connaissances sur la Brucellose des chèvres ont montré la persistance de quelques lacunes (RENOUX, 1957, d ; 1958 a). Le présent travail a pour objet de compléter les notions connues. Les résultats relatés ici et dans une note qui fait suite (RENOUX, 1962) éclaireissent bien des points mais posent de nouvelles questions.

A notre connaissance, le même type de travail reste à faire pour les Brucelloses bovine et suine. Une prophylaxie exacte de la Brucellose des animaux domestiques ne sera possible, aux moindres frais, que par une bonne connaissance de son étiologie et de sa pathogénie suivie de l'application correcte de l'enseignement qui en découle.

La suppression de la Brucellose chez les animaux doit aboutir à un relèvement important de la santé et du niveau de vie des hommes.

## II. — MATÉRIEL et MÉTHODES

L'essai a consisté à suivre pendant plus de deux ans un troupeau de chèvres infectées par *Br. melitensis* en notant les gestations et leurs résultats, en prélevant à intervalles réguliers du sang pour des réactions sérologiques et des cultures, en recherchant l'excrétion de *Brucella*.

1° 46 chèvres tunisiennes, âgées d'à peu près 1 an et demi, proviennent d'un troupeau indemne de Brucellose parce qu'aucun animal de ce troupeau n'a montré à 15 jours d'intervalle des réactions sérologiques positives à quelque taux que ce soit (agglutination, anticorps incomplets). Aucune des 45 chèvres n'a présenté d'agglutination positive même au taux de 1 : 10 à quatre réactions supplémentaires effectuées en six semaines.

Ces 46 chèvres sont infectées le 3 octobre 1956 par l'instillation sur la conjonctive de l'œil gauche d'une goutte de suspension de *Br. melitensis*, souche 53 H. 38 contenant  $2 \times 10^5$  bactéries vivantes.

Cette dose équivaut à un nombre de doses 50 p. 100 infectantes (D. 1. 50) compris entre 4 et 10 (RENOUX et *al.*, 1955 ; RENOUX, 1960). Elle a été choisie parce que, compte tenu des résultats expérimentaux antérieurs, ce nombre de *Brucella melitensis* infectera toutes les chèvres sans amener une infection massive, excessive, par trop différente d'une éventuelle maladie naturelle.

3 boucs, vaccinés depuis le 2 juin 1956 par le vaccin « *Br. melitensis* tué par le formol en excipient huileux », assurent les fécondations des chèvres.

Tous ces animaux sont laissés en liberté, mélangés, dans un enclos partiellement couvert. Aucune précaution n'est prise pour séparer les chèvres pleines du reste du troupeau.

2° 13 chèvres tunisiennes, neuves, de même âge, appartenant au même troupeau d'origine que les chèvres ci-dessus sont vérifiées indemnes de Brucellose par la complète négativité des examens sérologiques (agglutination, fixation du complément, anticorps incomplets) poursuivis à raison de 2 prélèvements mensuels pendant 9 mois de plus que les chèvres du lot précédent.

Ces 13 chèvres sont ajoutées au premier lot le 10 juillet 1957 pour juger de l'infection brucellose naturelle par contact, en même temps qu'un bouc neuf, adulte, destiné à assurer les fécondations.

La Brucellose pourra librement s'établir et se développer dans ce troupeau, peut-être plus aisément que dans les conditions habituelles de l'élevage des chèvres qui d'ordinaire ne sont pas retenues dans un enclos. Nous avons délibérément choisi ces conditions dans l'espoir d'obtenir un nombre maximal d'animaux infectés de Brucellose.

L'ensemble du troupeau est surveillé et suivi sérologiquement et bactériologiquement jusqu'au printemps de 1959.

3° Les réactions sérologiques et la bactériémie éventuelle sont recherchées chaque semaine pendant la durée de cette étude. Le sang nécessaire étant prélevé à l'aide de « Veinotubes » simples ou contenant une solution de citrate de soude.

4° Chaque fois que cela a été possible, on prélève un échantillon de mucus vaginal et un échantillon de sécrétion lactée (lait ou colostrum). Cependant, par suite de la distance entre la Station expérimentale et le laboratoire, les prélèvements de lait ne sont pas toujours faits régulièrement.

5° Quelques placenta seulement sont examinés, car pour obtenir toutes les chances d'une extension de l'infection, nous préférons laisser sur le sol de l'enclos le plus grand nombre possible de placenta et annexes fœtales lors des parturitions.

6° Après la mort d'un animal, nous procédons à son autopsie dans les conditions les plus aseptiques possibles. Un jeu nouveau d'instruments stériles est employé pour chaque prélèvement. Les échantillons sont placés chacun dans une boîte métallique stérile et dûment étiquetée pour être transportés au laboratoire. Sauf exception, les prélèvements ont porté sur les organes ou tissus suivants :

#### a) organes :

Rate, foie, rein, poumon, muscle (diaphragme et cuisse), mamelle, amygdale, moelle osseuse, utérus, ovaire.

#### b) ganglions lymphatiques :

Parotidien D et G, sous-maxillaire D et G, atlantaux D et G, médiastinal, retroscapulaires D et G, mammaires D et G, précuraux D et G, mésentérique, iliaque, poplités D et G.

7° Les réactions sérologiques effectuées sont :

Réaction d'agglutination en tubes ; réaction de fixation du complément ; recherche des anticorps incomplets dits « bloquants ».

Quelques autres réactions ont été pratiquées : agglutination sur lame, recherche des bactériotropines, réaction de floculation de Hunter, etc. Nous n'en décrivons pas les résultats qui n'ajoutent rien à ce qui a déjà été dit (RENOUX, 1957 a).

### 8. — Techniques.

#### A. — Cultures du sang.

Le sang prélevé en « Veinotubes » citratés est ensemencé dans la phase liquide d'un tube de Legroux préparé selon la méthode décrite par CASTANEDA (1947) et déjà utilisée dans les essais antérieurs sur la Brucellose des ovins et caprins (cf. en particulier, RENOUX et *al.*, 1955).

#### B. — Cultures des sécrétions lactées.

Nettoyage du pis à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau distillée stérile. On rejette les premiers millilitres de lait ; on recueille dans un flacon stérile, étiqueté, environ 20 ml de lait ou la plus grande quantité possible de colostrum. Souvent, il s'agit de cette sécrétion de la glande mammaire, dont nous ne saurions donner le nom, qu'on obtient chez les chèvres en dehors, ou très loin, de toute gestation.

Au laboratoire, le liquide ainsi recueilli est centrifugé. La crème surnageante est ensemencée à raison de 0,5 ml à l'aide d'une pipette à large bout, sur une boîte de milieu W E (RENOUX, 1954) ; le culot est ensemencé sur une deuxième boîte du même milieu. La partie intermédiaire servira à effectuer l'agglutination dans le petit lait.

Il est arrivé que la quantité de lait soit insuffisante pour toutes ces manipulations. Le lait entier est alors ensemencé, à raison de 1 ml sur une boîte de milieu W E.

Les boîtes inoculées sont portées à l'étuve à 37° C et conservées au moins pendant 10 jours avant d'être considérées négatives. Cependant, nous n'avons jamais observé de culture positive ou suspecte apparaissant après le 6<sup>e</sup> jour.

Cette technique reprend à peu près intégralement celle qui a été décrite (RENOUX et al., 1956, b).

#### C. — Cultures des sécrétions vaginales.

Elles sont faites selon la méthode déjà exposée (RENOUX et al., 1956, d), que nous nous bornons à rappeler brièvement ici. Un tube de verre, ouvert aux deux bouts, sert de spéculum pour guider et protéger l'écouvillon. Le prélèvement est fait dans le fond vaginal. L'ensemble, écouvillon et tube de verre, est placé dans un tube à essai stérile et étiqueté pour être transporté au laboratoire. Là, l'écouvillon est dégagé de son tube, humecté d'eau distillée stérile et frotté à la surface d'une boîte de milieu W E. Cette boîte, placée à l'étuve à 37°C, est conservée 10 jours avant d'être considérée négative. Aucune culture n'est apparue après le 6<sup>e</sup> jour.

#### D. — Cultures des placentas.

Les quelques placentas prélevés sont placés dans une boîte stérile et étiquetée. Au laboratoire, un petit cube est découpé dans la masse du placenta afin d'éliminer les couches superficielles trop contaminées. Ce cube est coupé en deux et une tranche de la section est ensemencée sur une boîte de milieu W E pour être examinée dans les mêmes conditions que ci-dessus.

#### E. — Cultures des échantillons d'organes et de tissus.

Au laboratoire, dans les 4 à 6 heures qui suivent l'autopsie, une tranche de section de chaque échantillon est ensemencée sur une boîte de milieu W E qui est conservée pendant 10 jours à l'étuve à 37°C avant d'être considérée négative. Cette méthode est celle utilisée dans les travaux antérieurs (RENOUX et al., 1956, c ; RENOUX et KARVOUNARIS, 1959).

Parfois, l'ensemencement a été fait simultanément après broyage individuel en « broyeur de Durand » et la purée ainsi obtenue ensemencée (0,5 ml) sur une boîte de milieu W E.

Enfin, il est arrivé que l'ensemble des échantillons restant après les ensemencements précédents ait été réuni et broyé dans un broyeur électrique ; 10 boîtes de milieu W E sont alors ensemencées avec la purée résultant de ce broyage en masse, à raison de 1 ml par boîte (RENOUX, 1957 b).

Il est essentiel que les boîtes de milieu W E soient fraîchement préparées et parfaitement sèches au moment de l'emploi (séjour de 3 à 4 heures, ouvertes et renversées, à l'étuve à 37° C).

Les solutions d'antibiotiques, bacitracine, polymyxine et actidione, sont stérilisées par filtration et fréquemment renouvelées, au moins tous les 8 jours.

#### F. — Identification des colonies suspectes.

S'il y a moins de 10 colonies suspectes par boîte, chaque colonie est identifiée ; s'il y a plus de 10 colonies, dix d'entre elles sont prélevées et identifiées.

Chaque colonie suspecte est identifiée par les méthodes suivantes :

1<sup>o</sup> Aspect macroscopique de la colonie à l'œil nu et à la loupe binoculaire.

La monographie de HIDDLESON (1952) rend les plus grands services et est indispensable pour reconnaître les aspects des colonies de *Brucella*. Avec un peu d'entraînement, l'apparence des colonies est tout à fait typique.

2<sup>o</sup> Examen au microscopie après coloration de Gram-Nicolle.

3<sup>o</sup> Agglutination d'une suspension de la colonie suspecte par un sérum complet anti-*Brucella*. C'est un stade indispensable de l'identification. Cependant, si cette épreuve est négative, il ne faut pas en conclure immédiatement que le microbe en cause n'est pas une *Brucella*. Nous verrons plus loin qu'il est possible d'isoler des formes « atypiques » de ces bactéries.

4<sup>o</sup> Culture sur les milieux bactériostatiques à la fuchsine basique ou à la thionine.

Colorants : National Aniline Co.

Milieu : Albimi Agar.

La concentration finale du colorant dans le milieu (1 : 80 000) est obtenue à partir de solution-stock à 0,5 p. 1000 de colorant en eau distillée. Ces solutions-stocks, fréquemment renouvelées sont conservées à 37° C afin d'être sûr de la mise en solution des colorants.

Il est important de mélanger de façon très homogène le colorant dans l'Albimi Agar liquéfié et conservé à 50° C.

Le milieu contenant le colorant est coulé en boîtes de Petri et, après solidification, séché 3 heures à l'étuve avant l'emploi.

La conservation à la glacière à + 4° C de telles boîtes pendant quelques jours ne paraît pas en modifier la valeur. Il faut absolument rejeter les boîtes de milieux bactériostatiques qui auraient été conservées à 37° C ou à la température du laboratoire (SACQUET et RENOUX, 1961).

A l'aide d'une règle et d'un crayon gras, on délimite dans le fond des boîtes, 8 à 12 portions rectangulaires. On ensemence chaque rectangle avec une suspension contenant de 6 à 7 milliards de bactéries au ml en sorte qu'on couvre exactement un petit rectangle de 1 × 1,5 cm.

Les résultats sont lus après 48 et 72 heures à l'étuve à 37° C.

Chaque souche est ensemencée en double exemplaire dont l'un est incubé dans une atmosphère contenant 10 p. 100 de gaz carbonique.

La présence ou l'absence de culture, l'aspect de ces cultures sont typiques.

Les témoins suivants accompagnent chaque lot d'identification :

a) ensemencement sur des boîtes d'Albimi Agar ordinaire, sans colorant, pour être sûr du développement de la souche en cours d'identification ;

b) adjonction des souches de *Brucella* connues, telles les souches étalons définies par un Rapport du Groupe F A O / O M S d'Experts de la Brucellose (1953).

5° Agglutination par les sérums monospécifiques anti A et anti M.

Ces sérums sont préparés selon une technique déjà décrite (RENOUX, 1958 b).

On utilise une suspension vivante, contenant environ 6 milliards de bactéries au ml. Les agglutinations sont faites par la méthode lente, en tubes.

Cet ensemble ne constitue pas toutes les méthodes applicables à l'identification complète d'une *Brucella*.

Pour identifier *Br. melitensis* de chèvres infectées sûrement par ce microbe, ces seules épreuves sont suffisantes. Cependant, dans quelques cas particuliers, il nous est apparu nécessaire de rechercher : (a) la fermentation du glucose à la fois par la technique de PICKETT et NELSON (1955) et par les méthodes usuelles d'identification des Entérobactéries ; (b) la culture sur milieu de Simmons au citrate de soude ; (c) l'activité uréasique dans le milieu de Fergusson ; (d) la fermentation d'autres sucres, mannitol, glycérol, etc. ; (e) la thermo-agglutinabilité (BURNET, 1929) et l'agglutination par une suspension d'acriflavine (ALESSANDRINI et SABATUCCI, 1931) ; (f) l'agglutination par des sérums plus particulièrement adaptés à certaines phases des *Brucella* (RENOUX et MAHAFFEY, 1955).

#### G. — Réaction d'agglutination.

Elle est pratiquée selon la technique dont nous avons déjà donné le détail (RENOUX, 1957 a) ; Un point cependant mérite d'être précisé : la souche *Br. suis* S. 6 utilisée est conservée par lyophilisation ; chaque lot d'antigène est préparé à partir de plusieurs colonies vérifiées « smooth » par la méthode d'HENRY (1933) après reconstitution de la culture.

Toute autre méthode de conservation de la souche-antigène lui fait courir de grands risques de dissociation, causes d'irrégularité dans la valeur de l'antigène.

L'antigène est étalonné par le Sérum Étalon International O. I. E. / F. A. O. / O. M. S. en sorte que l'agglutination par un sérum suspect dilué à 1 : 80 corresponde à la présence dans ce sérum de 100 unités-anticorps.

#### H. — Réaction de fixation du complément.

Pratiquée selon la technique déjà décrite (RENOUX, 1957 a) à l'aide d'un antigène cellulaire qui est le même que l'antigène pour agglutination mais utilisé à une dilution plus grande.

Le titrage de l'antigène se fait par la méthode « en échiquier », la réaction est du type Kolmer par fixation à froid.

Le principe de la fixation du complément est différent du principe de l'agglutination ; les titrages, les réactifs sont, eux aussi, différents : on détermine une unité antigénique (et on utilise 2 unités pour la réaction) d'après des dilutions de sérum qui sont différentes de celles de l'agglutination, etc.

Tout ceci rend difficile la détermination d'une « unité-anticorps » applicable à la déviation du complément et comparable à celle qui rend tant de services pour étalonner l'antigène agglutinant.

Avec l'antigène qui a servi aux réactions de la présente publication, on obtient une unité en le diluant à 1 : 800 en présence d'un sérum étalon dilué à 1 : 256.

#### I. — Recherches des anticorps incomplets.

Les anticorps incomplets, ou bloquants, ou univalents, ont été recherchés par deux méthodes :

a) *Méthode directe selon GRIFFITHS (1947).*

Ajouter à chaque tube négatif d'une réaction d'agglutination, après lecture de cette réaction, une goutte de sérum anti-*Brucella* de sorte que la dilution finale de ce sérum dans 1 ml de suspension « antigène + eau salée + sérum suspect » soit de 1 : 100. Porter à l'étuve à 37° C pendant une nuit. Lire la réaction. La présence d'anticorps bloquant empêche le sérum anti-*Brucella* d'agir : le ou les tubes de la réaction contenant cet anticorps bloquant seront donc « négatifs », la suspension y sera uniformément opaque ; au contraire, là où il n'y a pas d'anticorps bloquant, le sérum anti-*Brucella* agira et le ou les tubes en question montreront l'agglutination de l'antigène (RENOUX, 1950 a).

b) *Méthode indirecte.*

Dérivée de la méthode de COOMBS, pour la recherche des anticorps Rh, elle consiste à faire agir un sérum antiglobuline de lapin préparé contre l'espèce animale qui a fourni les échantillons sur la suspension microbienne sensibilisée par l'anticorps incomplet ou univalent (RENOUX, 1957 a).

Nous n'avons pas au cours de la présente étude utilisé l'eau salée à 5 p. 100 pour les réactions d'agglutination (TAYLOR et Coll., 1938 ; RENOUX, 1950 b) : en effet, nous tenions à pouvoir apprécier le nombre de « zones » éventuellement apparues.

### III. — RÉSULTATS

#### RÉSULTATS GLOBAUX : PRÉSENCE OU ABSENCE D'INFECTION BRUCELLIQUE CHEZ LES CHÈVRES

Les tableaux 1 à 4 résument les résultats des cultures faites pour les 59 chèvres en expérience. Ces cultures sont, rappelons-le, obtenues pendant la vie des chèvres d'échantillons de sang, de lait et de mucus vaginal et après la mort de l'animal des échantillons de tissus prélevés à l'autopsie.

Nous considérons dans une publication séparée (RENOUX, 1962) les gestations des mères et le sort et le comportement des chevreaux.

#### A. — *Apparition de preuves de l'infection chez les chèvres « contact »*

Pour établir les tableaux 1 à 4, il a été nécessaire de déterminer une date, point de départ de l'infection par *Br. melitensis* chez les chèvres « contact ». Ces chèvres avaient été mêlées le 10 juillet 1957 aux chèvres infectées par inoculation conjonctivale depuis le 3 octobre 1956.

A l'exception de 4 réactions d'agglutination observées chacune une fois chez des chèvres différentes, nous n'avons constaté aucun signe clinique, bactériologique ou sérologique de Brucellose dans le groupe des chèvres « contact » pendant les cinq premiers mois de la constitution du troupeau, avant la date du premier avortement dans le groupe des chèvres infectées artificiellement.

Le 9 décembre 1957, la chèvre infectée n° 240 avorte. Le premier signe certain de Brucellose chez une chèvre « contact » est une culture de lait positive le 21 décembre 1957 pour la chèvre n° 208.

Nous avons donc pris comme date de départ de l'infection dans le groupe des chèvres « contact », le 9 décembre 1957, jour de l'avortement de la chèvre n° 240.

La possibilité d'une infestation par l'intermédiaire des ectoparasites était supprimée par l'emploi régulier d'insecticides.

Malgré l'existence antérieure d'une élimination de *Br. melitensis* par les laits ou les sécrétions vaginales de certaines chèvres artificiellement infectées, l'infection



brucellique des chèvres « contact » ne serait réellement apparue qu'après des avortements ou des mises bas dans le groupe des chèvres infectées.

Le transfert de la Brucellose de chèvre à chèvre nécessite l'existence d'une émission massive de *Br. melitensis* dans le troupeau. Cette condition paraît n'être obtenue que par la présence de placenta, annexes, avortons et sécrétions génitales particulièrement riches en *Brucella* et tels que les expulsent les chèvres atteintes de Brucellose aiguë ou subaiguë.

### Légende des tableaux 1 à 4

- + : Chèvre infectée par « contact ».  
 \* : Les cultures après autopsie n'ont pu être pratiquées.  
 (1) : Temps, en semaines, entre l'infection et la date de la première culture positive obtenue du vivant de l'animal.  
 (2) : Temps, en semaines, entre la première et la dernière culture positive obtenues du vivant de l'animal.  
 (3) : Temps, en semaines, entre la dernière culture positive obtenues du vivant de l'animal et la date de l'autopsie.  
 (4) : Temps écoulé, en semaines, entre la date de l'infection et la date de l'autopsie. Ceci, seulement pour les tableaux 1 et 3.  
 MB : Mise bas à terme d'un chevreau, selon toutes apparences normal.  
 MN : Mort-né ; le produit de conception est mort spontanément moins de 48 heures après sa naissance.  
 Av : Avorton.  
 S, L, V : Ces signes placés dans la colonne (1) des tableaux 1 et 2 indiquent que la première culture positive est une culture du sang, du lait, du mucus vaginal. Par exemple, à la première ligne du tableau 2, 6 S V signifie que 6 semaines après l'infection, un échantillon de sang et un échantillon de mucus vaginal ont été positifs.  
 Pl : Culture du placenta.  
 m : La culture en masse de tous les échantillons prélevés à l'autopsie est positive.  
 — : indique la mort de la chèvre avant le moment probable d'une fécondation.

TABLEAU I

Nombre de prélèvements, intervalles entre infection et autopsies ; gestations chez 8 chèvres négatives.

N° des chèvres	CULTURES				(4)	Résultats des gestations		
	Sang	Lait	Vagin	Autopsie		1 <sup>re</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>
13 C +	25	1	3	26	56		MB —	—
9 C +	29		2	28	68			—
272	56	32	46	21	91		MB — P1 —	—
264	69	3	35	28	117			MB —
267	70	2	35	28	117			MB —
228	74	3	36	28	120			
231	75	8	40	28	120			2 MB —
239	72	5	38	28	123			MB —
Totaux...	470	54	235	215				

### B. — Résistance des chèvres à l'infection par *Br. melitensis*

Huit chèvres n'ont jamais fourni de cultures positives. On doit donc considérer ces chèvres comme étant indemnes de Brucellose, sous la réserve relative — que nous verrons plus loin — de la validité seulement partielle des résultats négatifs obtenus après culture.

Sur ces 8 chèvres, 6 proviennent du lot des 46 animaux artificiellement infectés et deux du lot de 13 chèvres « contact ». Les deux rapports  $\frac{6}{46}$  et  $\frac{2}{13}$  ne sont pas significativement différents.

Ces 8 chèvres soumises aux mêmes conditions que les autres animaux du troupeau avaient les mêmes risques de s'infecter au moment des excréctions massives de *Br. melitensis*.

Du point de vue sérologique, ces chèvres ont montré pendant des temps plus ou moins longs la présence d'anticorps anti-*Brucella* dans leur sérum, mais en général à des titres peu élevés. Ce furent de médiocres producteurs d'anticorps. Cependant la présence des anticorps signe leur imprégnation, au moins passagère, par *Br. melitensis*.

Il ne nous est pas possible de décider si ces 8 animaux sont totalement réfractaires à la Brucellose ou bien s'ils ont réussi à se débarrasser d'une très légère infection par *Brucella*.

En l'état actuel de la question, on doit seulement retenir que toutes les chèvres soumises aux mêmes conditions d'infection par *Br. melitensis* ne sont pas aptes à contracter la Brucellose.

TABLEAU 2

Résultats globaux observés chez 18 chèvres positives seulement pendant leur vie.

No des chèvres	CULTURES				(1)	(2)	(3)	Résultats des gestations		
	Sang total +	Lait total +	Vagin total +	Au- topsie total				1 <sup>re</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>
215 +	30 2	11 11	12 6	28	6 SV	20	37	2 A + P1 + MB —	—	—
218 +	29 1	16 1	16 0	28	6 S	11	47	MB —	—	—
258	46 2	4 0	33 6	26	4 S	13	53	2 Av *	—	—
229	59 1	20 0	46 1	29	8 S	18	68	MB —	—	—
225	71 0	13 3	47 1	28	4 V	77	40	{ MB + P1 +	MB —	—
222	70 1	1 0	34 0	29	10 S		107		MB —	—
226	69 3	23 0	45 0	29	13 S	4	100		MB —	—
238	73 0	12 1	33 0	28	6 L		112		MB —	—
249	75 7	20 0	47 7	28	3 S	16	102	Av *	MB +	—
256	71 0	22 1	45 0	28	64 L		55		2 MB +	—
223	74 0	20 1	49 1	27	29 VL		90		MB —	—
245	73 4	16 0	44 0	28	3 S	3	113		2 MB —	—
246	72 1	16 1	44 0	28	3 S	4	114		MB —	—
253	74 1	22 3	48 0	28	3 S	85	41		2 MB ±	—
262	71 1	14 2	45 0	28	7 S	78	34	Av *	MB +	—
270	72 1	2 1	33 0	28	8 SL		114			—
269	75 0	35 2	46 0	28	21 L	5	98	MB —	MB —	—
243	71 0	23 1	46 1	28	21 V	51	56		MB —	—
Totaux	1175 25	290 28	713 23	504						

### C. — Guérison spontanée des chèvres

18 chèvres, 16 artificiellement infectées et 2 « contact », ont fourni des cultures positives seulement à partir des échantillons prélevés pendant leur vie (tableau 2).

TABLEAU 3

Résultats globaux observés chez 17 chèvres positives à l'autopsie seule.

N° des chèvres	CULTURES				(4)	Résultats des gestations		
	Sang total	Lait total	Vagin total	Autopsie total +		1 <sup>re</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>
211 +	1	2	2	24 1	3	—	—	—
257	2	2	1	29 1	5	—	—	—
237	2	1	1	26 2	6	—	—	—
255	2	1	1	27 4	6	—	—	—
186 +	3	4	4	28 22	7	MN +	—	—
254	2	1	2	25 2	8	—	—	—
233	2	1	2	27 1	10	—	—	—
247	9	0	9	27 4	14	—	—	—
212 +	25	2	5	29 1	59	—	MB +	—
177 +	29	3	6	29 1	63	—	MB —	—
261	45	3	32	26 1	63	—	2 MB * + P1 +	—
86 +	30	0	2	29 1	66	—	—	—
250	47	5	36	26 8	68	—	Av —	—
241	71	0	34	30 2	117	—	2 Av +	MN +
259	71	2	34	29 m	117	—	—	MB —
275	69	5	41	29 1	117	MN +	—	MB —
252	64	23	50	29 1	121	—	MB —	MB +
Totaux...	474	55	262	469 53 1 m				

TABLEAU 4

Résultats globaux observés chez 16 chèvres positives de leur vivant et après autopsie.

N° des chèvres	CULTURES				(1)	(2)	(3)	Résultats des gestations		
	Sang total +	Lait total +	Vagin total +	Autopsie total +				1 <sup>re</sup>	2 <sup>e</sup>	3 <sup>e</sup>
260	2 1		1 0	27 11	85		3 jours	—	—	—
248	9 3	5 0	9 1	27 5	75	4	5	—	—	—
221	39 3	11 1	32 6	25 1	12 SV	33	7	Av +	—	—
230	48 0	5 1	37 1	23 4	9 V	51	8	—	Av +	—
240	47 0	14 3	37 7	29 3	9 VL	8	52	MB +	2 Av +	—
216 +	24 0	23 1	18 0	29 3	24 L		31	MN —	MB + P1 +	—
208 +	26 1	16 11	13 0	30 26	2 L	54	2 jours	MB + P1 +	2 MB +	—
202 +	26 1	7 2	14 0	29 m	85	13	35	MB — P1 —	MB —	—
179 +	23 1	7 5	11 3	28 3	10 SL	10	45	MB +	—	—
227	70 5	13 0	42 0	29 m	4 S	11	96	—	MB —	MB —
232	72 1	15 1	46 0	29 m	16 S	47	53	—	MB —	MB +
236	70 0	6 0	38 3	28 4	76 V	6	37	—	P1 +	P1 —
244	70 0	18 0	44 1	29 m	11 V		107	—	MB +	MB —
224	71 1	40 15	49 11	29 1	4 V	74	43	MB + P1 +	MB +	MB —
235	73 1	23 1	49 5	29 1	3 V	9	110	—	MB +	MB +
268	72 1		33 2	29 1	4 S	6	113	Av +	—	—
	742 19	203 41	473 40	449 63 4 m						

Toutes les cultures faites des 504 prélèvements obtenus après autopsie de ces 18 chèvres sont négatives.

Malgré les restrictions que l'on peut faire sur la validité absolue des résultats de cultures qui sont négatifs, il apparaît bien certain que des chèvres sont tout à fait capables de guérir spontanément de l'infection par *Br. melitensis*, comme nous l'avions déjà soupçonné (RENOUX et *al.*, 1955).

L'aptitude à la guérison spontanée est propre à certaines chèvres. Elle n'est pas due au temps écoulé entre la présence de cultures positives pendant la vie de l'animal et son autopsie : cela découle de l'examen des tableaux 1 à 3 où l'on voit que les délais qui nous intéressent sont pratiquement les mêmes qu'il s'agisse de chèvres positives aussi bien de leur vivant qu'après leur autopsie ou de chèvres positives seulement pendant une période de leur vie. Mais, cette aptitude à la guérison observée chez certaines chèvres paraît être sous l'influence de deux facteurs :

1° Le nombre de cultures positives obtenues du vivant des animaux est, comme le montrent les tableaux 4 et 2, significativement plus faible par rapport au nombre d'échantillonsensemencés chez les chèvres négatives à l'autopsie (76/2178 pour 18 chèvres) que chez les chèvres positives à l'autopsie (100/1418 pour 16 chèvres).

TABLEAU 5

*Rapports entre le temps écoulé de l'infection à l'autopsie et les résultats des cultures.*

Temps entre infection et autopsie	Nombre de chèvres			
	négatives de leur vivant et après autopsie	Positives pour <i>Br. melitensis</i>		
		de leur vivant et après autopsie	à l'autopsie seule	de leur vivant seul
moins de 13 semaines ...		1	7	
de 14 à 26 semaines ...		1	1	
de 27 à 39 semaines ...				
de 40 à 52 semaines ...		1		
de 53 à 65 semaines ...	1		3	2
de 66 à 78 semaines ...	1	5	2	1
de 79 à 91 semaines ...	1	1		
de 92 à 104 semaines ...				1
de 105 à 117 semaines ...	2	2	3	3
de 117 à 130 semaines ...	3	5	1	11

Dans la première année : 11 chèvres sur 11 positives à l'autopsie ;  
dans les six mois qui suivent, seulement 10 sur 15 ;  
ensuite 12 sur 33.

2° Le tableau 5 indique assez clairement que le temps écoulé entre l'infection et l'autopsie est un facteur important : plus ce temps est long, plus les chèvres ont des chances de se débarrasser de la Brucellose. Jusqu'à 18 mois après l'infection (78 semaines) 26 chèvres ont été autopsiées : 8 sont positives à la fois de leur vivant et après autopsie, 3 sont positives seulement aux cultures obtenues pendant leur vie. Après 18 mois, sur 33 chèvres sacrifiées, 8 sont positives à la fois de leur vivant et après autopsie mais 15 chèvres ne sont positives que pendant leur vie.

La possibilité qu'ont certaines chèvres de guérir de la Brucellose due à *Br. melitensis* dépend donc à la fois de l'intensité de l'imprégnation de leur organisme par *Brucella* et de la durée de l'observation.

En d'autres termes : certaines chèvres sont plus résistantes que d'autres à la contagion brucellique : cela se manifeste par une infection moins intense pour autant que le nombre de cultures positives soit un moyen de l'apprécier et cela peut aller jusqu'à la guérison bactériologique spontanée et complète obtenue après une maladie de 15 à 18 mois.

#### D. — Absence d'excrétion de *Br. melitensis* par certaines chèvres

17 chèvres hébergent *Br. melitensis* dans leurs tissus comme le révèlent les résultats des cultures après autopsie. Aucune de ces chèvres n'avait fourni de cultures pendant sa vie.

Pour les 7 chèvres sacrifiées dans les 10 semaines qui ont suivi le jour de l'inoculation infectante, l'absence d'excrétion constatée provient sans doute du trop petit nombre d'échantillons prélevés : 14 sangs, 12 laits, 13 mucus vaginaux.

Pour les 10 autres chèvres sacrifiées entre la 14<sup>e</sup> et la 121<sup>e</sup> semaine après la date de l'infection, 460 sangs, 43 laits et 249 mucus vaginaux ont été prélevés. Ces chiffres sont inférieurs, en proportion à ceux des prélèvements analogues faits chez les 34 chèvres excrétrices : 1 917 sangs, 488 laits et 1 186 mucus vaginaux.

Cependant, 6 des chèvres non excrétrices ont fourni, chacune, de 32 à 60 prélèvements vaginaux et de 41 à 71 sangs : ces nombres sont suffisants pour permettre de penser que certaines chèvres sont incapables à excréter *Br. melitensis* par leur appareil génital et que la bactériémie brucellique est de très faible intensité chez de telles chèvres, sans qu'il y ait nécessairement une relation entre ces deux faits.

#### E. — Porteurs chroniques

Les tableaux 4 et 3 résument l'histoire de 33 chèvres qui hébergent *Brucella* dans leur organisme jusqu'à 123 semaines après la date de l'infection.

On peut considérer ces animaux comme des porteurs chroniques de l'infection brucellique.

#### PRÉSENCE DE BRUCELLA DANS LES CULTURES D'ÉCHANTILLONS PRÉLEVÉS APRÈS AUTOPSIE

1 637 échantillons provenant de 59 chèvres ont permis 2 834 ensemencements séparés ou après broyage de la masse des organes.

La moelle osseuse constamment négative n'a été prélevée que 10 fois et l'encéphale une seule fois ; d'ailleurs, ce dernier échantillon fut positif (chèvre 186).

Les résultats bruts des ensemencements de ces prélèvements d'organes ou de tissus figurent dans la colonne 5 des tableaux 1 à 4.

1. 719 échantillons de 26 chèvres (tableaux 1 à 4) sont négatifs : 76 échantillons ensemencés par frottis seul, 28 par broyage et 615 à la fois par frottis et broyage. De plus, 187 échantillons provenant de 7 chèvres et dont une portion avait déjà

été ensemencée par frottis et broyage, ont été broyées en masse et ensemencées à raison de 10 boîtes de milieu W E pour chaque chèvre.

2. Sur 773 échantillons de 28 chèvres (tableaux 4 et 3), 116 ont donné une culture de *Brucella*.

a) 13 chèvres ont fourni 344 échantillons ensemencés par « frottis » seul avec 47 cultures positives.

b) 429 échantillons, représentant 15 chèvres, ensemencés à la fois par frottis et après broyage ont donné 113 cultures de *Brucella* pour 69 échantillons positifs.

Ces cultures se répartissent de la manière suivante :

Frottis et broyage positifs = 88 cultures pour 44 échantillons positifs.

Frottis seul positif = 11 cultures pour 11 échantillons positifs.

Broyage seul positif = 14 cultures pour 14 échantillons positifs.

Les cultures par frottis seul auraient isolé *Brucella* de 9 chèvres sur 15 ; les cultures par broyage seul, de 13 chèvres sur 15.

La multiplication des techniques d'ensemencement permet d'obtenir plus fréquemment *Brucella* des tissus d'un animal suspect. Le broyage des échantillons augmente les chances de trouver les *Brucella* éventuellement présentes sans que la différence entre les deux méthodes d'ensemencement, par frottis ou après broyage, soit statistiquement significative.

3. L'ensemencement en masse de tous les restes conservés à  $-25^{\circ}\text{C}$  après les ensemencements précédents a été pratiqué pour 513 échantillons de 15 chèvres.

On peut résumer ainsi les résultats constatés :

a) 3 chèvres (n° 247, 248, 255) sont positives par 12 échantillons sur 31 ensemencés par frottis : l'ensemencement en masse (1 ml de purée d'organes par boîte de milieu W E, 10 boîtes par chèvre) est positif pour ces 3 chèvres : 30 boîtes sur 30 ;

b) 187 échantillons de 7 chèvres représentant 21 ensemencements après frottis et 332 par frottis et broyage sont négatifs ; l'ensemencement en masse de tous ces échantillons est également négatif (chèvres n° 13 C, 215, 225, 228, 249, 253, 272) ;

c) 145 échantillons de 5 chèvres ont fourni 290 cultures après frottis et broyage : toutes ces cultures sont négatives ; pour chaque chèvre, l'ensemencement en masse a amené un résultat positif avec respectivement l'identification de 1, 6, 8, 15 et 16 colonies (chèvres n° 202, 227, 232, 244, 259).

Donc, l'ensemencement en masse des échantillons de tissus a permis :

- de confirmer l'existence de *Brucella* dans les tissus de 3 chèvres sur 3 ;
- de confirmer l'absence de cette bactérie pour 7 chèvres sur 7 ;
- d'isoler *Brucella* des organes de 5 chèvres où les méthodes habituelles avaient échoué.

Nous pensons, sans l'avoir vérifié par une expérience systématique, que la congélation à  $-25^{\circ}\text{C}$  des échantillons soit un facteur qui favorise la mise en évidence des *Brucella* : la congélation et décongélation permettrait la rupture des cellules animales et la libération des bactéries intra cellulaires.

4. 116 résultats positifs correspondent à 86 organes lymphatiques, y compris les amygdales, sur 517 mis en culture (16,6 pour cent) et 30 organes divers sur 256 (11,7 pour cent) : la différence entre ces deux groupes n'est pas significative (au seuil de probabilité de  $P = 0,05$ ).

13 chèvres n'ont été positives que par la culture d'un seul échantillon : la rate

(n° 177 et 257) ; le poumon (n° 261) ; le foie (n° 268) ; la mamelle (n° 235) ; ganglion sous-maxillaire droit (n° 224, 233, 252) ; ganglion atlantal droit (n° 275) ; ganglion atlantal gauche (n° 8 C) ; ganglion retro-scapulaire droit (n° 212) ; ganglion mammaire droit (n° 221) ; ganglion precural droit (n° 211).

Aucune des 15 autres chèvres, n'est positive que par la culture des seuls organes ; 2 chèvres ne signalent leur atteinte brucellique que par la présence de *Brucella* dans leurs ganglions.

Il n'est pas possible d'affirmer la présence ou l'absence de *Brucella* dans les tissus d'un animal si le nombre des échantillons est limité, quel que soit le choix que l'on fasse des lieux de prélèvement.

Seules, la multiplicité des échantillons et des techniques de culture assurent des résultats approchés de quelque valeur.

TABLEAU 6  
*Nombre d'échantillons positifs après autopsie des chèvres.*

	Nombre total	Positifs		Nombre total	Positifs
I. Ganglions et organes lymphatiques.					
Amygdale .....	14	4	Rétroscapulaire ..... D	28	5
Parotidien ..... D	28	6	— ..... G	27	4
— ..... G	28	5	Mammaire ..... D	26	4
Sous-maxil. .... D	28	10	— ..... G	27	6
— ..... G	28	6	Mésentérique ..... D	28	3
Atlantal ..... D	25	6	Iliaque ..... D	28	2
— ..... G	26	5	Precural ..... D	27	4
Laryngien ..... D	27	5	— ..... G	27	3
— ..... G	27	6	Poplitée ..... D	20	1
Mediastinal ..... D	28	3	— ..... G	20	1
II. Autres organes.					
Encéphale .....	1	1	Mamelle.....	28	6
Rate.....	28	7	Utérus.....	28	1
Foie.....	28	5	Ovaire.....	28	1
Poumon.....	28	5	Muscle diaphragme.....	22	1
Rein.....	27	2	— cuisse.....	28	1
			Moelle osseuse.....	10	0

Comme le montre le tableau 6, toutes les parties du corps des chèvres peuvent contenir des *Brucella*. Les constatations actuelles étendent aux amygdales et aux ganglions poplités la présence de *Brucella* dans les divers organes ou tissus, déjà démontrée après les autopsies de 98 chèvres (RENOUX et *al.*, 1956, c).

5. 28 chèvres, nous l'avons dit, ont fourni des cultures positives d'échantillons ensemencés séparément : 116 échantillons sur 773 (15 p. 100) ont permis 160 cultures de *Brucella* sur 1 223 boîtes ensemencées (13 p. 100). Le tableau 7 détaille les ensemencements effectués et leurs résultats. Il montre que 13 cultures ne contenaient qu'une seule colonie de *Brucella* et 16, moins de 10 colonies ; que 3 chèvres sont positives parce qu'on a trouvé seulement 1 colonie dans une seule culture ; que 9 chèvres ont donné des prélèvements dont la culture contenait moins de 10 colonies ; que l'on retrouve une situation semblable avec certains des échantillons provenant d'une chèvre cependant massivement infectée.

Étant donné les résultats obtenus après ensemencement des échantillons broyés en masse où l'on voit que 5 chèvres, négatives selon les cultures après frottis et broyage, sont cependant porteuses de *Brucella*, il faut attacher une grande importance à l'isolement d'une seule colonie (ou de quelques colonies) provenant d'un seul échantillon : cela prouve la présence de *Brucella* dans l'organisme de la chèvre et doit inciter à une certaine prudence dans l'appréciation des résultats négatifs qui sont parfois simplement dus à l'insuffisance des techniques bactériologiques généralement employées. <sup>(1)</sup>

TABLEAU 7

Résultats des cultures obtenues des échantillons prélevés après autopsie des chèvres.

Nombre de chèvres	Nombre d'échant. prélevés	Nombre de cultures faites		Nombre d'échant. positifs	Nombre de cultures positives									Nombre d'échant. positifs par chèvre
					1 colonie		moins de 10 col.			plus de 10 col.				
		FB	F		F	B	FB	F	B	FB	F	B		
13	363	512	107	13	1	2		2	2		4	2	2	1
3	81	102	30	6	2			1	1			2		2
3	86	114	29	9	5			1				2	1	3
4	105	56	77	16				3			2	10	2	4
1	27		27	5								5		5
1	26		26	8								8		8
1	27		27	11	1							10		11
1	28	56		22							44			22
1	30	60		26	1	1	2	2	2		34	1	2	26
Totaux	773	900	323	116	10	3	2	9	5		84	40	7	

F = ensemencement par Frottis d'une tranche de section de l'échantillon ;

B = ensemencement après Broyage d'une portion de l'échantillon ;

FB = ensemencement par l'emploi simultané des deux méthodes ci-dessus.

6. Il serait important de savoir si les chèvres, dont les cultures positives sont rares, sont des animaux en voie de guérison ou des porteurs chroniques de *Brucella*. Ces chèvres sont-elles un réservoir de la Brucellose et pourront-elles, plus tard, disséminer à nouveau ces microbes ou bien avons-nous affaire à des animaux prémunis sans danger pour leur entourage ? C'est le même problème que celui des porteurs « sains » de bacilles tuberculeux ; la présence, telle qu'elle peut être révélée par un état allergique positif, du bacille tuberculeux dans un organisme est-elle, ou sera-t-elle, sans danger à la fois pour le porteur de bacilles et pour son entourage ?

Quels éléments avons-nous pour essayer de donner une réponse à ces questions ?

a) certaines chèvres guérissent sûrement d'une infection brucellique et nous disposons d'éléments d'appréciation, *a posteriori*, puisque ces chèvres considérées comme un groupe unique fournissent, de leur vivant, moins de cultures positives du sang, du lait et du mucus vaginal que les chèvres qui seront positives à l'autopsie pratiquée plus d'un an après l'inoculation infectante.

<sup>(1)</sup> A notre connaissance, personne n'avait jusqu'ici tenté l'ensemencement en masse de la totalité des échantillons prélevés. Cependant, il est fréquemment advenu qu'on déduise des conclusions « définitives » de résultats de cultures portant à la fois sur peu d'échantillons et sur une seule technique d'ensemencement.



b) D'autre part, il existe des chèvres incapables d'excréter *Br. melitensis* et pour lesquelles les hémocultures sont négatives. Cependant, ces chèvres sont infectées comme le démontrent les résultats de l'autopsie.

c) Compte tenu de ces deux points, on constate (tableaux 4 et 3) que les 13 chèvres qui n'ont fourni chacune qu'un échantillon positif après leur mort sont :

i) Neuf chèvres, sur 17 semblables, positives à l'autopsie seule ; 3 étant sacrifiées moins de 10 semaines après l'infection, les 6 autres entre 59 et 121 semaines. Donc, l'infection manifestée par l'existence de *Brucella* dans un seul échantillon *post-mortem* se constate pendant toute la durée de l'observation, au moins 2 ans et 4 mois après le contact infectant.

ii) Quatre chèvres positives pendant leur vie et après autopsie (un animal sacrifié 1 an après l'infection ; trois, 121 à 123 semaines après cette infection) : 492 échantillons de sang, lait et mucus vaginal prélevés pendant leur vie ont donné 48 résultats positifs. Cependant que sont positifs 41 des 491 échantillons similaires pris chez les 8 chèvres dont plusieurs cultures faites après autopsie contiennent des *Brucella*. Les chèvres fortement infectées pendant leur vie donneront un nombre très variable de foyers de *Brucella* dans leurs organes quand elles seront examinées *post-mortem*.

iii) Au contraire, 4 chèvres, dont seule la culture en masse est positive, ont donné pendant leur vie 11 cultures positives sur 437 effectuées ; une cinquième, semblable *post-mortem*, est négative pendant sa vie. Les 18 chèvres négatives à l'autopsie ont fourni 76 cultures positives pendant leur vie sur 2 178 pratiquées.

Ce contraste net des résultats des cultures pendant la vie, entre le groupe des chèvres dont les échantillons après autopsie sont positifs et le groupe où ces mêmes échantillons sont négatifs confirme bien toute l'importance à attribuer à l'isolement de *Brucella* des organes ou tissus, quel que soit le nombre des résultats positifs.

TABLEAU 8

Récapitulation des diverses constatations faites chez les chèvres gestantes, selon les résultats des cultures.

Résultats des cultures après autopsie	Résultats des gestations				Chèvres positives à l'autopsie seule		Chèvres positives pendant leur vie		
	Av et MN		A terme		Nombre	Délai entre infection et autopsie	Nombre	Délai entre infection et autopsie	Cultures du vivant
	+	—	+	—					
1. Plusieurs échantillons positifs ..	7	2	7	8	3	7 à 117 semaines	6	68 à 82 semaines	37/463
2. Un seul échantillon positif .....	3	0	6	5	5	59 à 121 semaines	4	52 à 123 semaines	47/492
3. Culture en masse positive. ....			1	8	1	117 semaines	4	56 à 118 semaines	11/437
4. Négatives .....	2	2	6	22			17	63 à 128	74/2071

d) Le tableau 8 montre les résultats des gestations, le nombre de produits positifs et les résultats des cultures faites chez les mères. Dans le groupe où un seul échantillon *post-mortem* est positif, 9 chèvres sur 13 ont mis bas 14 chevreaux dont

9 hébergent *Brucella* : dans le groupe où plusieurs échantillons sont positifs à l'autopsie, 9 chèvres sur 15 ont mis bas 24 chevreaux dont 14 infectés.

Il n'y a pas de différence entre les deux groupes sur la proportion de produits de conception infectés. Paradoxalement, le taux de fécondité paraît meilleur dans le groupe des chèvres où plusieurs échantillons sont positifs à l'autopsie.

Ainsi, quel que soit le délai écoulé entre le contact infectant et l'autopsie, on peut ne trouver qu'un seul échantillon contenant *Brucella*. On ne peut donc conclure de la présence d'une seule culture *post-mortem* positive, à l'imminence de la guérison de l'animal s'il eut vécu. A moins de penser qu'héberger *Brucella* dans son organisme pendant 2 ans et 5 mois n'est pas la signature d'une infection, ce qui paraît absurde.

Les chèvres fortement brucelliques d'après les résultats des cultures pendant leur vie et d'après le sort de leurs gestations, peuvent ne révéler cette infection que par la présence de très rares *Brucella* dans leurs organes après leur mort : la découverte de rares gîtes pauci-bacillaires à l'examen nécropsique ne peut renseigner sur l'histoire de la chèvre examinée.

Force est, en conclusion, d'avoir une attitude très prudente. Les résultats de la culture en masse de tous les échantillons prélevés montrent que les moyens d'investigation généralement employés, ne permettent pas d'isoler toutes les *Brucella* éventuellement présentes dans les tissus d'un animal. D'où l'importance, que nous soulignons à nouveau, de la mise en évidence d'une seule culture positive.

Certaines chèvres où l'on n'a trouvé qu'une seule culture positive à l'autopsie auraient guéri ou seraient devenues des porteurs de germes sains, des animaux pré-munis, sans danger pour eux ou leur entourage ; mais quelques-une de ces chèvres peuvent être le foyer d'une nouvelle flambée de Brucellose. Comme dans la tuberculose, la constatation actuelle d'un « saprophytisme » de *Brucella* ne permet pas de préjuger de l'avenir.

#### RÉSULTATS DES HÉMOCULTURES

3 017 hémocultures sont pratiquées chez les 59 chèvres en expérience. Il y a lieu de déduire de ce total 156 échantillons prélevés sur les chèvres « contact » avant la date de l'infection.

1° 8 chèvres sont négatives à tous les examens y compris 470 cultures de sang.

17 chèvres n'ont fourni d'échantillons positifs que parmi ceux prélevés après autopsie : 474 hémocultures pratiquées sont négatives.

1 917 hémocultures sont faites pour 34 chèvres ( 9 « contact » et 25 artificiellement infectées) qui présentent des cultures positives pendant leur vie : 11 chèvres, 694 cultures de sang, n'ont jamais eu d'hémocultures positives ; 23 chèvres (5 « contact » et 18 artificiellement infectées) ont 44 hémocultures positives sur 1 223 pratiquées.

Le mode d'infection, naturel ou artificiel, n'a aucune importance, dans les conditions de l'expérience, sur la présence ou l'absence de bacillémie à *Brucella* chez les chèvres (tableaux 1 à 4).

2° Comparativement au nombre total d'échantillons de sang prélevés, la fréquence d'une hémoculture positive est très faible : 44 sur 2 861, soit 1 p. 100. Cette fréquence reste faible, 3,6 p. 100, même rapportée uniquement aux hémocultures des chèvres positives.

3°. La première hémoculture positive est constatée de la 3<sup>e</sup> à la 17<sup>e</sup> semaine après l'infection ; le temps moyen entre la date de l'infection et la première — ou

l'unique — culture positive de sang est de 7, 8 semaines : 13 chèvres sur 23 ont fourni 30 des 44 hémocultures à *Br. melitensis* 7 semaines ou moins de 7 semaines après l'infection.

Pendant cette période de 7 semaines, 413 échantillons de sang ont été prélevés avec 30 résultats positifs, soit 7,2 p. 100.

Huit chèvres ont fourni plusieurs hémocultures positives : de 2 à 7 par animal.

L'intervalle entre la première et la dernière hémoculture positive varie entre 3 et 17 semaines avec une moyenne de 6 semaines. L'intervalle entre l'infection et la dernière hémoculture positive varie entre 7 et 20 semaines, avec une moyenne de 11 semaines. Quel qu'ait été le sort ultérieur des chèvres, nous n'avons jamais obtenu de culture de sang positive après la 20<sup>e</sup> semaine (5 mois) qui suit le jour de l'infection même en cas d'avortement de l'animal.

En résumé : la bacillémie à *Br. melitensis* apparaît chez les chèvres assez tardivement après le contact infectant, 7 semaines en moyenne, et dure 20 semaines au maximum quel que soit le sort de la chèvre. On ne constate cette bacillémie que sur approximativement 40 p. 100 des chèvres infectées. La chèvre 249 (tableau 2) qui a fourni 7 hémocultures positives et dont toutes les cultures après autopsie sont négatives est un exemple de l'absence de corrélation entre cette bacillémie et la profondeur de l'impregnation de l'organisme par *Br. melitensis*.

4<sup>o</sup> Chacune des 23 chèvres a fourni de 1 à 7 échantillons de sang positifs ; autant qu'on en puisse juger (tableaux 4 et 2) il n'y a pas de relation évidente entre la présence d'une bacillémie et l'excrétion de *Br. melitensis* par le lait ou le mucus vaginal.

5 chèvres sur 23 sont positives de leur vivant par les hémocultures seules, les autres épreuves sont négatives : les chèvres 227 et 260 sont également positives à l'autopsie ; les chèvres 222, 226 et 245 n'ont été positives que par les cultures de leur sang (respectivement, une, trois et quatre).

TABLEAU 9

*Taux des Anticorps*  
— au moment d'une hémoculture positive —  
chez les chèvres en expériences.

Agglutination	FIXATION DU COMPLÉMENT											To-taux
	—	2	4	8	16	32	64	128	256	512	pas faite	
—	3		2		2						8	15
10				1			2	1			5	9
20				1		1	1		1			4
40											1	1
80						2					5	7
160								1			4	5
320												
640										2		2
1 280										1		1
Totaux . . . . .	3		2	2	2	3	3	2	1	3	23	44

5°. Le tableau 9 résume les résultats des réactions sérologiques, agglutination et fixation du complément, au moment d'une hémoculture positive chez les chèvres de cette expérience.

Ce tableau 9 confirme des constatations antérieures (RENOUX et ALTON, 1955) sur l'absence de corrélation directe entre le taux des agglutinines et la présence de *Brucella* dans le sang des chèvres : en effet, 15 hémocultures sont positives alors que l'agglutination est négative, 13 hémocultures sont obtenues avec des taux de 1 : 10 ou 1 : 20 et 16 en même temps que des taux égaux ou inférieures à 1 : 40 <sup>(1)</sup>.

A titre d'exemple et de comparaison, le tableau 10 contient les résultats relevés pendant 2 ans sur les cahiers du Laboratoire et concernant, bien entendu, d'autres sangs que ceux qui font l'objet de la présente étude. Là aussi, il n'y a aucune corrélation entre agglutination positive et hémoculture positive pour 342 chèvres et 78 brebis : dans près d'un tiers des cas l'hémoculture positive chez les chèvres coïncide avec un séro-diagnostic négatif.

TABLEAU 10

*Taux des Agglutinines au moment d'une hémoculture positive.*

	Titre des séro-diagnostic											To-taux
	—	10	20	40	80	160	320	640	1 280	2 560	5 120	
Hommes.....	4	4	1	3	4	4	5	8	8	4	6	51
Cobayes.....	19	3	14	21	27	24	11	6	16	3	1	145
Chevreaux.....	23	3	0	6	1	4	2					39
Chèvres .....	95	36	14	12	31	48	13	29	11	10	4	303
Brebis .....	34	9	9	7	11	4	2	2				78
Totaux .....	175	55	38	49	74	84	33	45	35	17	11	616
%	30	9	6	8	12	14	5	7	6	2,8	1,6	

Au contraire, il semble que chez l'homme et chez le cobaye, une telle corrélation existe : le nombre d'hémocultures positives croît en même temps que le titre de l'agglutination, confirmant les chiffres donnés par TAYLOR et *al.* (1938).

Le nombre d'examen pratiqués ne permet pas de conclure absolument que la relation entre une hémoculture positive chez la chèvre et le titre de la réaction de fixation du complément soit valable. Bornons-nous à le constater en attendant des investigations plus complètes.

#### RÉSULTATS DES CULTURES DE PLACENTA ET DE SÉCRÉTIONS VAGINALES

##### A. — Cultures de placenta (tableaux 1 à 4)

Onze placenta seulement ont été mis en culture : 9 révèlent la présence de *Br. melitensis*. Chaque fois, sauf pour le premier chevreau de la chèvre 232, les résultats des cultures du chevreau et de la culture du placenta coïncident.

<sup>(1)</sup> Ce taux d'agglutination de 1 : 40 correspond à la présence de 50 Unités Internationales dans 1 ml de sérum (Rapport O. M. S. 1958).

La mise en culture du placenta est sans doute la meilleure méthode pour obtenir des *Brucella* dans un troupeau suspect.

B. — Cultures de sécrétion vaginale  
(tableaux I à 4 et tableaux II et 12)

1<sup>o</sup> 16 des 59 chèvres du troupeau (et des 34 positives pendant leur vie) ont permis une ou des cultures positives à partir de 1 683 échantillons de mucus vaginal.

Ainsi, approximativement 30 p. 100 des chèvres sont capables d'éliminer *Brucella* par leur mucus vaginal, confirmant les chiffres d'une étude antérieure (RENOUX et al., 1956, d).

2<sup>o</sup> Les 16 chèvres positives par le mucus vaginal ont fourni 63 cultures de *Brucella* à partir de 610 échantillons (10,3 p. 100), le nombre d'échantillons positifs variant entre 1 et 11 par chèvre. Deux chèvres, n<sup>o</sup> 236 et 244, n'ont, pendant leur vie, démontré l'infection brucellique que par les cultures des sécrétions vaginales.

3<sup>o</sup>. Le tableau II, résume assez explicitement la fréquence, la durée et la date d'apparition de cultures de mucus vaginaux positives. Les temps (durée de l'excrétion, délais divers) sont exprimés, sauf l'exception de la chèvre 249, en semaines. Le chiffre entre parenthèses à la fin de la ligne relative à la chèvre 221 signale une culture positive apparue isolément 33 semaines après la mise bas.

TABLEAU II  
Excrétion vaginale de *Br. melitensis* par les chèvres.

N <sup>o</sup> des chèvres	Infection du chevreau	Total des échantillons	MUCUS VAGINAUX							
			Positifs uniquement avant mise bas			Positifs avant et après mise bas			Positifs pendant et après mise bas	
			Échant. +	Durée de l'excrétion	Délai entre excrétion et m. bas	Échant. +	Durée excrétion	Délai entre 1 <sup>e</sup> culture et m. bas	Échant. +	Durée de l'excrétion
A. 10 ch. Lait +										
235	+	49	5	9	59					
225	+	47	1	1	58					
230	+	37	1	1	50					
243	—	46	1	1	42					
223	—	49	1	1	34					
224	+	49				11	33	6		
215	Av +	12							6	11
221	+	32							6	8 (33)
240	+	37							7	8
179	+	11							3	4
B. 6 ch. Lait —										
258	Av *	33	6	11	63					
244	—	44	1	1	51					
229	—	46	1	1	37					
236	+	38	3	6	7					
249	Av *	47				7	9	4 jours		
268	Av +	33							2	2

La plupart des chèvres excrétaient *Brucella* par le vagin le font bien avant la parturition qu'elle soit normale ou non. Chez 9 chèvres sur 16, le mucus vaginal est positif entre 63 et 7 semaines avant la mise bas et uniquement avant.

Pour 2 chèvres l'excrétion de *Brucella* par le vagin commence respectivement 4 jours et 6 semaines avant le part et se continue après. Cinq chèvres seulement n'ont fourni de résultats positifs qu'à partir de la mise bas. Mais, l'excrétion est plus abondante quand elle a lieu après la mise bas : avant mise bas, 22 prélèvements positifs sur 397 (5,5 p. 100) ; après mise bas, 41 sur 213 (19,2 p. 100).

Nous confirmons une constatation antérieure : des chèvres en apparence normale, qui n'ont jamais mis bas ou avorté, éliminent *Brucella* par leurs sécrétions vaginales dans un nombre appréciable de cas : un tiers des prélèvements positifs et la moitié des animaux (RENOUX et *al.*, 1956, *d*).

La présence de *Br. melitensis* dans les liquides vaginaux paraît signer une fixation précoce de *Brucella* dans la muqueuse utérine.

Cette excrétion bactérienne dure longtemps, beaucoup plus que les trois semaines communément admises. Dix chèvres ont fourni plusieurs prélèvements positifs : une excrète pendant 15 jours seulement, les 9 autres excrètent d'une manière quasi continue pendant 4 à 33 semaines.

TABLEAU 12

*Taux des Anticorps au moment d'une culture positive de mucus vaginal.*

Agglutination		FIXATION DU COMPLÉMENT										To-taux
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	pas faite	
—			2	2	2	3	3				6	18
10							3	1		1	4	9
20	1		2	1	1	2	2					9
40					2		1					3
80						3					2	5
160							2	3	1	2		8
320									2	4		6
640										3		3
1 280										2		2
Totaux .....	1		4	3	5	8	11	4	3	12	12	63

4° Le tableau 12 montre les rapports possibles entre l'excrétion vaginale de *Br. melitensis* et les titres des réactions sérologiques dans le sang prélevé le même jour. On voit que 36 cultures positives sur 63 correspondent à des titres d'agglutination négatifs ou simplement suspects : 50 sur 51 cultures positives correspondent à des titres positifs de fixation du complément.

#### RÉSULTATS DES CULTURES ET DES AGGLUTINATIONS FAITES AVEC LES SÉCRÉTIONS LACTÉES.

##### A. — Résultats des cultures

53 des 59 chèvres du troupeau ont donné 602 échantillons de « lait » mis en culture (tableaux 1 à 4).

69 de ces cultures (27, 3 p. 100) sont positives ; elles correspondent à 22 chèvres et à 362 prélèvements.

1° Quatre chèvres, n° 216 « contact » et n° 238, 256, 259 artificiellement infectées, ne sont positives de leur vivant que par les cultures de lait.

2° 42 des 46 chèvres artificiellement infectées ont fourni des échantillons de lait : 16 chèvres (282 prélèvements) ont donné 38 cultures positives, soit 3 chèvres sur 7 et 13 pour cent des échantillons.

6 chèvres sur 11 « contact » ont donné 31 cultures de *Brucella* pour 80 échantillons ensemencés : approximativement 1 chèvre sur 2 et 40 p. 100 des échantillons.

La différence des taux d'excrétion dans les deux groupes est significative : 38/382 et 31/80 ( $\chi^2$  supérieur à 6).

Cependant nous n'avons trouvé aucune raison qui permette d'expliquer pourquoi les chèvres « contact » ont éliminé *Brucella* par leurs sécrétions lactées plus souvent que les chèvres infectées par inoculation conjonctivale.

3° a) Le lait entier a été ensemencé 192 fois : 23 cultures sont positives (12 p. 100).

b) Avec 410 échantillons, on a effectué des cultures séparées de la crème et du culot obtenu après centrifugation (820 cultures). 46 échantillons (11,2 p. 100) sont positifs et se répartissent de la manière suivante :

Crème seule : 0 positif ;

Culot seul positif = 17 ;

Crème et culot positifs ensemble = 29.

Ces chiffres font ressortir la très évidente supériorité de l'ensemencement du culot de centrifugation sur celui de la crème pour l'isolement de *Brucella* du lait de chèvre (RENOUX et *al.*, 1956, b).

La présence de *Br. melitensis* surtout dans le culot du lait de chèvre s'oppose aux résultats obtenus avec le lait de vache où la crème serait plus souvent positive que le culot de centrifugation (HUDDLESON, 1943). Ce serait une des différences existant entre la Brucellose bovine et la Brucellose caprine. On peut faire des remarques analogues avec la réaction à l'antigène coloré, dite « ring-test », où l'on note, chez les vaches, quand cette réaction est positive, la présence d'un anneau, tandis que chez les chèvres une agglutination est le plus fréquemment observée (RENOUX et CORDIER, 1952 ; RENOUX et *al.*, 1956, b). Cela tient-il à des différences physico-chimiques dans la composition et la nature des laits ?

4° L'irrégularité relative de la cadence des prélèvements empêche d'être formel sur la fréquence et la continuité de l'excrétion des *Brucella* par les sécrétions lactées des chèvres. Cependant, le tableau 13, où la durée de l'excrétion et les délais entre mise bas et excrétion sont exprimés en semaines, rend compte des résultats obtenus et permet quelques conclusions. On note la présence de *Br. melitensis* dans la sécrétion lactée très longtemps avant toute fécondation de la chèvre : de 34 à 114 semaines (la chèvre 270 n'a jamais été féconde en 2 ans 1/2 d'observation et a cependant fourni une telle culture positive). Cela n'est pas pour étonner puisqu'on sait la présence assez fréquente de *Br. melitensis* dans la mamelle des chèvres autopsiées même peu de temps après l'infection (RENOUX et *al.*, 1956, c).

L'excrétion peut être irrégulière : un ou des prélèvements négatifs succèdent à un ou des prélèvements positifs (202, 224, 225, 263, 262, 269). Elle apparaît assez tardivement après l'infection : l'excrétion lactée de *Br. melitensis* la plus précoce est

TABLEAU 13  
*Excrétion de Br. melitensis par le lait des chèvres.*

N° des chèvres	Infection du chevreau	Total échantillons	ÉCHANTILLONS DE LAIT						
			Positifs uniquement avant la mise bas		Positifs pendant et après la mise bas		Positifs seulement après la mise bas		
			+	Délai excrétion mise bas	+	Durée excrétion	+	Durée excrétion	Délai excrétion mise bas
A. 10 chèvres vagin +									
235	+	23	1	53					
230	+	5	1	50					
223	—	20	1	34					
224	+	40			13	23	2	3	15
215	Av +	11			11	20			
225	+	10			3	18			
179	+	7			5	10			
240	+	14			3	3			
221	+	11					1		33
243	—	23					1		9
B. 10 chèvres vagin —									
270		2	1						
238	—	12	1	114					
246	—	16	1	64					
253	+	22	1	57			2	18	5
256	+	22			1				
208	+	16			11	26			
216	+	23					1		23
262	+	14					2	22	3
269	—	35					2	5	7
218	—	11					1		12
202	—	7					2	4	18
232	—	15					1		2
Temps exprimé en semaines									

TABLEAU 14  
*Agglutines négatives dans le lactosérum :  
rapports avec agglutinines ou sensibilisatrices du sang.*

Titre des agglutinines dans le sang	Titres de la fixation du complément dans le sang									Aggl. Totaux
	—	2	4	8	16	32	64	128	256	
—	77	11	9	5	3	2				107
10	35	9	8	6	7	10	5			80
20	35	4	5	10	4	7	3	1		69
40	10	1		2	2	4	3	1	1	24
80	2	1			1	5		2	2	13
160						3	1	3		7
Totaux F. C. ....	159	26	22	23	17	31	12	7	3	300



celle de la chèvre 208 : 2 semaines après l'infection ; mais toutes les autres sont constatées entre 6 et 64 semaines après cette infection.

L'excrétion peut être continue pendant d'assez longues périodes. par exemple :

Chèvre 215 : 11 prélèvements positifs sur 11 pendant 20 semaines ;

Chèvre 179 : 5 prélèvements positifs sur 5 pendant 10 semaines ;

TABLEAU 15

*Agglutinines positives dans le lactosérum :  
rapport avec agglutinines ou sensibilisatrices du sang.*

Titres de l'agglutination dans le sang	Titres de la fixation du complément dans le sang										Aggl. Totaux
	—	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
—	0 ▲ 0 0		▲		X X	0 ▲		▲ X	X		12
10	0 ▲ X 0 ▲ 0 0 0	X	0	0 ▲	0 X 0		0 ▲	X X	▲ X X		22
20	0 0 ▲ 0 0 ▲ 0		X	X	0 X 0	▲	X		X		15
40	0		▲				0 ▲ X 0 X 0 0 0				10
80	▲				▲	0 ▲ 0 ▲ 0 ▲	▲				9
160							0 X	X X	▲ X X	▲ X ▲ X	11
320									X X	0 ▲ X 0 X 0 X	9
640										▲ X	2
1 280										▲	1
Totaux ....	21	1	4	3	9	9	14	6	10	14	91

0 = Agglutination du lactosérum positive 1 : 10 et 1 : 20 ;

▲ = Agglutination du lactosérum positive 1 : 40 et 1 : 80 ;

X = Agglutination du lactosérum égale ou supérieure à 1 : 160.

Chèvre 208 : 9 prélèvements sur 9 positifs consécutifs pendant 19 semaines, précédés 7 semaines plus tôt d'un échantillon positif lui-même suivi de 4 échantillons négatifs ;

Chèvre 224 : 11 prélèvements positifs sur 11 consécutifs pendant 14 semaines, suivis de 4 prélèvements négatifs pendant 6 semaines et à nouveau de 2 prélèvements positifs pendant 3 semaines.

Ainsi l'excrétion de *Br. melitensis* par le lait de chèvre peut exister pendant au moins 5 mois.

TABLEAU 16

*Comparaison entre les résultats globaux de la lacto-agglutination et les agglutinations et fixations du complément dans le sang.*

	Agglutination dans le sang				Fixation du complément			
	—	1 : 10, 1 : 20	1 : 40, 1 : 80	1 : 160 et au-dessus	—	1 : 2, 1 : 4	1 : 8, 1 : 16	1 : 32 et au-dessus
300 laits —	107	149	37	7	159	48	40	53
34 laits								
1 : 10, 1 : 20	4	17	9	4	14	1	5	14
26 laits								
1 : 40, 1 : 80	4	8	8	6	6	2	2	16
31 laits								
1 : 160 et au-dessus	4	12	2	13	1	2	5	23

*B — Résultats des agglutinations du lactosérum ; comparaison avec les cultures de lait et avec les réactions sérologiques dans le sang*

La réaction d'agglutination par le lactosérum est faite selon la technique utilisée pour l'agglutination du sérum sanguin. Le lactosérum est obtenu après coagulation du lait écrémé par la présure.

Nous disposons de 391 échantillons de lait dont le séro-diagnostic est pratiqué en même temps que les réactions d'agglutination et de fixation du complément avec le sérum sanguin prélevé le même jour.

Les tableaux 14 et 15 tentent de résumer les constatations ainsi faites. Le tableau 14 montre, en effet, les titres d'agglutination ou de fixation du complément dans le sang comparés à 300 agglutinations négatives obtenues avec le lactosérum. Le tableau 15 compare les titres d'agglutination ou de fixation du complément dans le sang le même jour que 91 agglutination positives dans le lactosérum. Un fait est évident à première vue : la présence ou le taux d'agglutinine dans le lactosérum est sans grande corrélation avec les agglutinines constatées dans le sang comme le montre le tableau 16 : si une corrélation approximative devait être trouvée, elle serait plutôt en faveur des rapports entre la fixation du complément dans le sang et les agglutinines dans le lait, sauf pour les cas où le lactosérum ne montre que de faibles titres d'agglutination.

En réalité, il apparaît bien que chaque anticorps évolue pour son propre compte, au moins dans une certaine mesure. La simple filtration du sérum sanguin à travers

TABLEAU I7

*Taux d'agglutination dans le lactosérum et taux d'agglutination ou de fixation du complément dans le sang  
pour les échantillons de lait dont la culture est positive.*

Fixation du complément dans le sang										LAITS		Agglutination dans le sang									
pas fait	256 512	128	64	32	16	8	4	2	—	Nombre d'échantillons	Titre d'agglutination	—	10	20	40	80	160	320	640	280	
				2			1	1	5	9	—	1	5	1	2						
	2		1	2		1	1		1	8	10		2	2	1	1		2			
			1	1						2	20			1		1					
	2		2						1	5	40				1	2			2		
	2								1	3	80								1	1	
	4	2					1			7	160	1		1	1		3	1			
	4	3								7	320	1	1				2	3			
	3		3							6	640					1	1				
	1									1	1 280							1			
	1									1	2 560							1			
6	4	4	2	3	1	1	1		1	20	pas fait	8	3	5			1	1		2	
6	23	6	9	8	1	2	4	1	9	69		11	15	11	5	5	7	11	1	3	

la paroi des capillaires de la mamelle n'est pas suffisante pour expliquer ces constatations. La glande mammaire doit bien certainement y ajouter des mécanismes plus complexes comprenant, sans doute, la formation locale d'anticorps.

C. — *Le titre des anticorps dans le lait et le sang  
en rapport avec le résultat des cultures de lait*

Le tableau 17 résume les relations entre les taux d'anticorps trouvés dans le lait ou le sang et la présence de *Br. melitensis* dans l'échantillon de lait prélevé le même jour.

La lacto-agglutination peut être négative tandis que la culture du même lait contient des *Brucella*. Comme cela se produit dans 3 p. 100 des cas, nous pensons que cette proportion n'est pas absolument négligeable et qu'il serait dangereux de se fier à la fausse sécurité qui découlerait de l'équation inexacte : lacto-séro-diagnostic négatif = absence de *Brucella* dans le lait.

Cependant, une culture de lait n'a jamais été positive quand au moins une des 3 réactions sérologiques n'était pas positive.

Comme nous l'avons déjà remarqué à propos des hémocultures ou des cultures de sécrétions vaginales, les réactions de fixation du complément à un titre élevé coïncident avec le plus grand nombre de cultures de lait positives.

IDENTIFICATION DES SOUCHES ISOLÉES

Les 336 cultures positives correspondant à 44 hémocultures, 69 prélèvements de lait, 63 de sécrétions vaginales et 160 cultures de 116 échantillons de tissus ont amené à pratiquer 2 075 identifications de *Brucella*. Les 555 identifications des colonies isolées de cultures de sang ou de sécrétions vaginales correspondent à *Br. melitensis* en phase « smooth ». 445 sur 450, identifications de colonies isolées du lait sont également *Br. melitensis* smooth.

Toutes les identifications de colonies isolées des cultures après ensemencement des tissus obtenus *post-mortem* pour 30 chèvres sont *Br. melitensis* smooth.

Pour 3 chèvres (n° 224, 261 et 268) les colonies identifiées ont des caractéristiques qui les rapprochent de la souche C 16 A que nous avons isolée d'une brebis artificiellement infectée par *Br. melitensis* 53 H. 38 (RENOUX et MAHAFFEY, 1955) : culture en présence de thionine et de fuchsine basique, faible agglutination par un sérum anti-*brucella* (1 : 40, 1 : 80, au lieu de 1 : 1280), pas d'agglutination par les sérums monospécifiques anti-A ou anti-M, suspensions stables à la chaleur et en présence d'acriflavine, agglutinées par le sérum anti-C 16 A et par un sérum anti-« chevreau 232 » (cf. RENOUX, 1962). Les 5 colonies isolées du lait de la chèvre 246 ont les mêmes caractéristiques « atypiques ».

Les souches isolées des chèvres 224, 246 et 261 ne donnent pas de dégagement de S H<sub>2</sub> ; les souches isolées de la chèvre 268 dégagent de l'hydrogène sulfuré en quantité abondante pendant au moins 4 jours. On remarque que d'autres cultures de *Brucella* ont été obtenues pour les chèvres 224, 246 et 268 et que toutes les identifications correspondantes ont donné *Br. melitensis*, smooth et typique.

D'autre part, deux souches semblables de *Brucella* atypiques au moins par leurs caractères antigéniques ont été isolées de deux chevreaux (RENOUX, 1962).

Ces souches, riches en antigène « r » ressemblent beaucoup aux « dissociated strains » d'ALTON (1960). Elles se rapprochent de *Br. ovis* (BUDDLE, 1956) dont elles diffèrent surtout par l'absence de besoin en gaz carbonique pour se développer.

Une telle dissociation *in vivo* de *Br. melitensis* mérite qu'on lui accorde quelque attention.

#### RÉSULTATS DES EXAMENS SÉROLOGIQUES DANS LE SANG DES CHÈVRES

59 chèvres ont fourni 2 866 échantillons de sang, qui ont permis d'effectuer 8 728 réactions sérologiques : agglutinations, fixations du complément et recherche des anticorps incomplets par les méthodes de GRIFFITHS et de COOMBS.

Dans les pages précédentes, nous avons vu les rapports éventuels entre la mise en évidence de *Br. melitensis* dans un prélèvement et les titres d'agglutination ou de déviation du complément dans le sang examiné au même moment que l'échantillon mis en culture ; en général, on ne trouverait de corrélation entre un résultat sérologique positif et une culture, également positive, que dans le cas de la réaction de fixation du complément.

##### A. — Délai d'apparition d'une réaction sérologique positive après l'infection

Nous disposons d'un repère précis pour les chèvres artificiellement infectées et d'une bonne indication — la date du premier avortement susceptible d'être la cause de l'infection — dans le cas des chèvres « contact » ; ces points fixes permettent d'établir le tableau 18.

Ce tableau rend compte de l'apparition de n'importe quel titre pour n'importe quelle réaction. Il est souvent advenu, comme le montrent les graphiques 1 à 9 et le paragraphe B ci-dessous, qu'à une phase sérologiques positive ait succédé une phase négative de plus ou moins longue durée.

Il était difficile de tenir compte de ce fait, cependant très important, au stade actuel de l'exposé.

Le tableau 18 s'explique de lui-même : les chiffres dans les colonnes correspondent aux numéros des chèvres en expérience. N'y figurent pas les chèvres n° 247 et 260, mortes respectivement 12 et 4 semaines après l'infection artificielle, sans avoir jamais, à aucun moment, montré la présence d'anticorps (du moins par les techniques utilisées) dans leur sang : cependant l'une et l'autre chèvre étaient positivement infectées par *Br. melitensis*.

Dans le cas de chèvres naturellement, ou artificiellement mais légèrement infectées par *Brucella*, il faut un assez long délai pour qu'apparaissent dans le sang des anticorps (incomplets, agglutinant ou déviant le complément) : en moyenne 3 à 5 semaines après le jour de l'infection, et ce, en tenant compte de n'importe quel titre observé. Dans beaucoup de cas, il eût fallu attendre de longs mois avant de voir se développer une agglutination ou une fixation du complément atteignant les titres considérés comme significatifs.

On remarquera qu'un nombre non négligeable de chèvres n'a montré d'anticorps sériques que très tardivement après l'infection, entre 6 et 12 semaines par exemple : deux d'entre elles, les numéros 268 et 225 (cf. tableaux 2 et 4) avaient fourni des cultures positives 2 à 6 semaines avant l'apparition des anticorps — quel qu'en soit le taux — dans leur sang.

Il faut enfin noter que la présence d'anticorps incomplet ou bloquant n'est pas plus précoce que celle de l'agglutinine ou de la sensibilisatrice spécifique.

Dans l'ensemble, ces résultats montrent d'assez nettes différences avec ceux qui avaient été obtenus chez des chèvres, artificiellement et massivement infectées.

Il en faut retenir que chez les chèvres infectées par *Br. melitensis*, la présence d'anticorps dans le sang est relativement tardive dans les conditions naturelles de la maladie : certaines chèvres ont excrété des *Brucella* avant l'apparition d'une réaction sérologique positive.

TABLEAU 18

*Date d'apparition, après l'infection, d'anticorps dans le sang des chèvres.*

Semaines	I. Chèvres artificiellement infectées			II. Chèvres « contact »		
	A	FC	AI	A	FC	AI
3	222, 223, 232, 235, 246, 253, 258, 264, 267		273, 254			
4	230, 237, 238, 244, 245, 249, 259, 262	237, 255, 257	224, 227, 229, 236, 239, 241, 248, 255			
5			231, 272	8, 9, 179, 202, 208, 212, 215, 218	8, 9, 179, 202, 208, 212, 215	
6			221, 240, 261, 268, 269, 270, 275			
7						
8	226		243, 250			
9				186	186	
10	228, 252	228	225			
11	256					
12						
13					13, 177	177
21				216		

A = agglutination 1 : 10 ou au-dessus ;

FC = fixation du complément 1 : 2 ou au-dessus ;

AI = anticorps incomplet.

#### B. — *Sort des anticorps sériques au cours de l'évolution de la brucellose caprine*

Il eût été agréable de présenter un schéma type de l'évolution des agglutinines, sensibilisatrices et anticorps incomplets pendant la durée de la Brucellose caprine.

Un tel schéma où l'on voit les anticorps rapidement monter, se maintenir à un certain titre pendant un certain temps, puis lentement décroître, ne se rencontre que rarement.

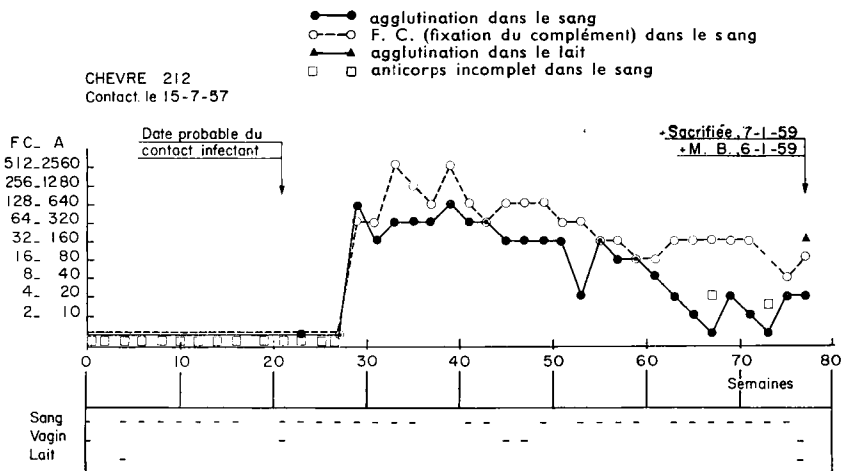
Nous avons établi pour chaque chèvre un graphique analogue à ceux qui sont publiés ici.

Une représentation exacte de la vérité consisterait à dire que chaque animal a un comportement sérologique qui lui est propre.

Néanmoins, il a été possible de réduire à 9 graphiques différents l'ensemble des constatations.

*Graphique 1* : (chèvre 212, contact) : environ 6 semaines après le contact infectant on voit monter rapidement les titres des agglutinines et des sensibilisatrices anti-*Brucella*. Ces titres se maintiennent à peu près en plateau pendant 8 mois, puis, parallèlement et ensemble, décroissent lentement. Agglutination, surtout, et fixation du complément sont à des titres faibles au moment de l'autopsie de la chèvre qui peut, cependant, héberger encore *Br. melitensis*.

C'est, en somme, un schéma classique d'évolution dans le temps des anticorps chez un animal infecté.



GRAPH. 1.

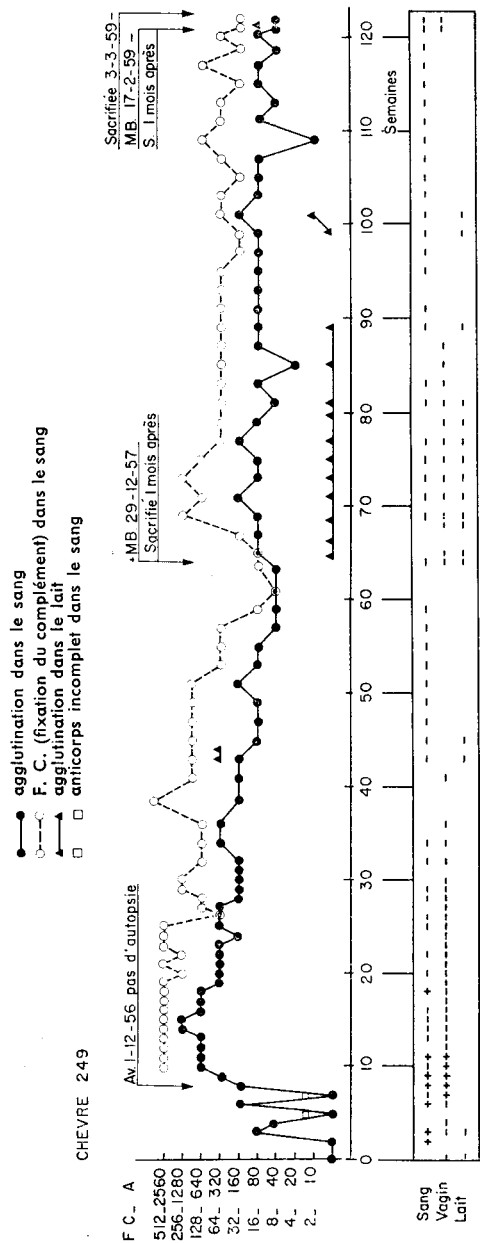
Le *graphique 2* (chèvre 249, artificiellement infectée) ressemble au précédent : ascension rapide des anticorps, établissement d'un plateau. Mais, d'une part ce plateau est diphasique : une première période où l'agglutination est égale ou supérieure à 1 : 160 (200 U. I.) et la fixation du complément égale ou supérieure à 1 : 128 suivie d'une longue période, aussi longue que l'observation, où les titres s'établissent autour de 1 : 80 (1 : 40 parfois) pour l'agglutination et 1 : 64 pour la fixation du complément.

Là encore nous avons affaire à un schéma classique.

Notons que dans ces deux graphiques la courbe des fixations du complément est toujours située au-dessus de la courbe des agglutinations.

Ces deux types de graphiques (*graphique 1* et *2*) se rencontrent chez 6 chèvres sur 59.

Le *graphique 3* est un exemple de ce que nous avons constaté chez 6 autres chèvres.

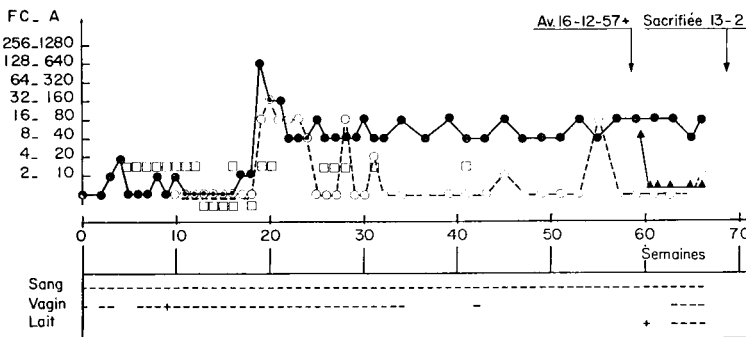


GRAPH. 2.



CHEVRE 230

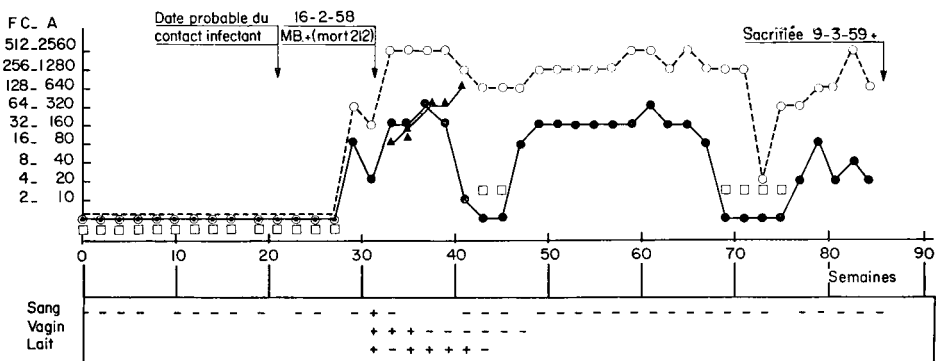
●● agglutination dans le sang  
○--○ F. C. (fixation du complément) dans le sang  
▲ agglutination dans le lait  
□ □ anticorps incomplet dans le sang



GRAPH. 3.

CHEVRE 179  
Contact 15-7-57

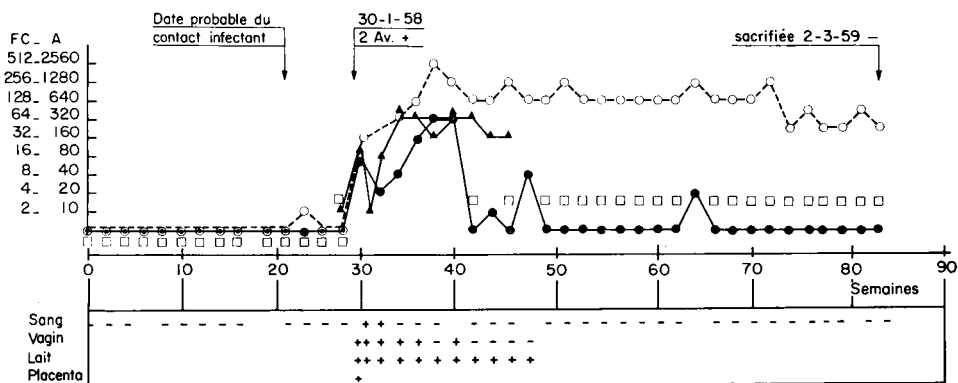
●● agglutination dans le sang  
○--○ F. C. (fixation du complément) dans le sang  
▲ agglutination dans le lait  
□ □ anticorps incomplet dans le sang



GRAPH. 4.

CHEVRE 215  
Contact 15-7-57

●● agglutination dans le sang  
○--○ F. C. (fixation du complément) dans le sang  
□ □ anticorps incomplet dans le sang  
▲ agglutination dans le lait

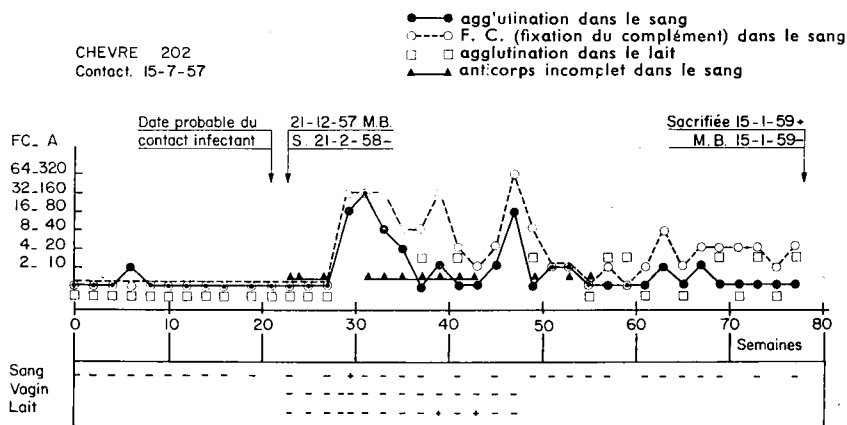


GRAPH. 5.

vres : présence d'agglutinines à des taux faibles, ne dépassant qu'accidentellement 1 : 160, et absence quasi complète de sensibilisatrice.

Les graphiques 4 et 5 sont les plus fréquemment observés : 7 fois pour le graphique 4, et 13 fois pour le graphique 5. Ils montrent, à l'évidence, la conservation de la fixation du complément alors que l'agglutination a disparu depuis fort longtemps. A noter les périodes assez longues (graphique 4) où les agglutinines disparaissent pour réapparaître.

Le graphique 6 est, lui aussi, très fréquent (11 chèvres) : quelques clochers positifs de faible durée et de peu d'amplitude séparés par de longs intervalles tout à fait négatifs, sauf pour la recherche de l'anticorps incomplet.



GRAPH. 6.

Un aspect ressemblant à celui du graphique 7 se rencontre chez 9 chèvres : il est caractérisé par la persistance, tout au long de l'observation, de très faibles titres d'agglutinines ne dépassant que rarement 1 : 20, pendant que la déviation du complément reste pratiquement négative.

Enfin, les graphiques 8 (4 chèvres) et 9 (3 chèvres) objectivent l'existence d'un nombre non négligeable de chèvres qui, cependant infectées par *Br. melitensis*, sont incapables de manifester leur maladie par la création d'anticorps (au moins décelables par les méthodes employées).

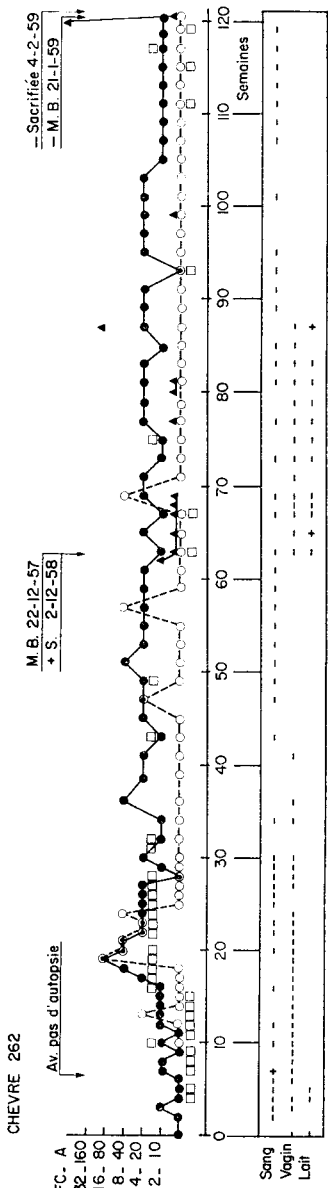
On le voit, on rencontre au cours de la Brucellose caprine à peu près tous les schémas d'évolution des anticorps qu'il eût été possible d'imaginer.

### C. — Présence de phénomène de zone

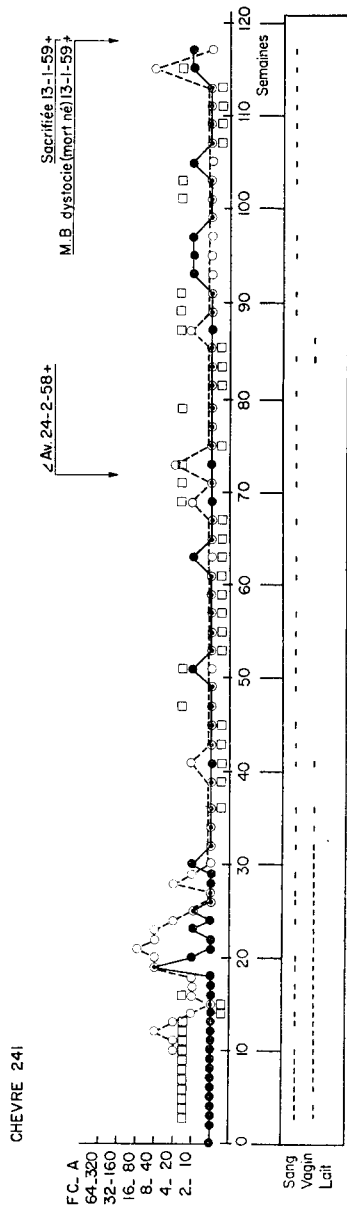
Nous ne reviendrons pas sur le principe de ce phénomène de zone ou d'agglutination paradoxale ; nous n'avons rien lu qui permette de modifier ce que nous en avons déjà dit (RENOUX, 1953).

1<sup>o</sup> Phénomène de zone et agglutination.

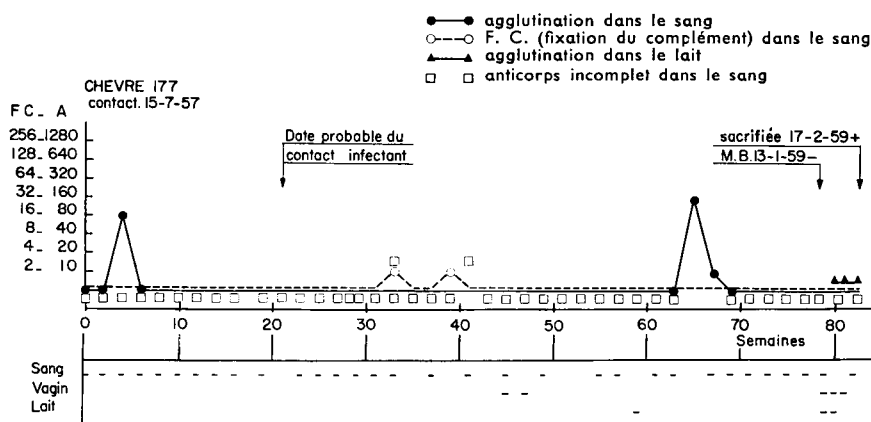
a) 1 178 sérums, provenant de 59 chèvres, agglutinent à un titre égal ou supérieur à 1 : 20 (= 25 Unités Internationales).



GRAPH. 7.



GRAPH. 8.



GRAPH. 9.

15 chèvres (3 « contact » et 12 artificiellement infectées) ont fourni 420 sérums agglutinant au moins à ce titre de 1 : 20 ; 129 de ces sérums présentent une zone. Ainsi, 10,9 p. 100 de la totalité des sérums positifs pour n'importe quelle chèvre présentent une zone ; ces zones sont le 1/3 des sérums provenant de 15 chèvres.

Il apparaît bien que seules certaines chèvres possèdent l'aptitude à fournir des sérums présentant une zone puisque nous n'en constatons que chez 15 chèvres sur 59. Cela est confirmé par le fait que 3 animaux, n° 221, 224 et 268, représentent à eux seuls la moitié des zones notées.

b) Répartition des zones selon le titre final d'agglutination :

Titres	Nombre total de sérums	Nombre de sérums avec zone	%
1 : 20	116	4	3,1
1 : 40	82	16	
1 : 80	79	45	75,9
1 : 160	70	37	
1 : 320	45	19	
1 : 640	21	4	20,9
1 : 1280	7	4	
	420	129	

Comme le démontre ce tableau, le phénomène de zone dans le sérum de chèvres atteintes de Brucellose n'est pas dû à la présence d'un excès d'anticorps agglutinant, mais à l'existence concomitante d'anticorps incomplet, univalent. Cela est confirmé par la démonstration constante de cet anticorps univalent (bloquant ou incomplet) par l'adjonction d'un sérum antiglobuline spécifique dans les tubes de la réaction, sièges de la zone.

c) Types de zones rencontrées :

la réaction de forme —, + correspond à 73 sérums ;

la réaction de forme +, —, +, existait dans 56 sérums.

Quatre fois (2 sérums agglutinant à 1 : 80, 1 sérum à 1 : 160 et 1 sérum à 1 : 320) l'agglutination n'était visible que dans un seul tube.

2° Phénomène de zone et fixation du complément.

a) On peut aussi constater des « zones » au cours des réactions de fixation du complément. Mais de telles zones sont très rares. En tout, nous avons observé 20 zones sur 143 sérums fixant le complément à un titre égal ou supérieur à 1 : 8 et provenant de 4 chèvres seulement, soit moins de 2 p. 100 des 980 sérums positifs à 1 : 8 ou au-dessus.

L'aptitude à fournir des sérums présentant une zone est propre à certains animaux : la chèvre 268 (dont 18 échantillons de sang avaient une zone d'agglutination) donne à elle seule 10 des 20 sérums avec une zone de fixation du complément.

b) Il n'y a pas de relation directe entre le titre maximum de fixation du complément et la présence d'une zone. Tous les résultats sont également répartis au long de l'échelle des titres. Bien plus, les sérums de la chèvre 236 ont montré trois fois une telle zone sans que jamais un échantillon de cet animal ait fixé le complément à un titre supérieur à 1 : 16.

c) Un seul type de zone de fixation du complément a été rencontré : —, +.

d) La cause du phénomène de zone dans la réaction de fixation du complément n'est probablement pas la même que dans l'agglutination :

1° Seuls 2 sérums de la chèvre 268 montrent des zones aux deux réactions ; ce qui peut être une coïncidence puisque 10 fixations du complément sur 28 effectuées et 18 agglutinations sur 41 ont une zone.

2° 3 des sérums de la chèvre 212 ont une zone de fixation ; aucun des sérums de cette chèvre n'a eu de zone d'agglutination.

3° Il n'y a jamais coexistence des deux sortes de zones dans les sérums provenant des 2 autres chèvres.

#### D. — Relations entre les réactions d'agglutination, de fixation du complément et de recherche de l'anticorps incomplet

Dans le présent paragraphe, comme dans les pages qui précèdent, nous nous référons en parlant de la recherche de l'anticorps incomplet à la technique qui le met en évidence par le moyen d'un sérum anti-globuline de chèvre. En effet, si nous avons systématiquement employé deux méthodes, celle de GRIFFITHS et celle dérivée de COOMBS et vérifié ainsi leur concordance, la technique de COOMBS s'est révélée plus sensible, donnant des titres beaucoup plus élevés.

1° Dans le cas des chèvres naturellement infectées (ou artificiellement, mais avec une quantité faible de *Br. melitensis*) et comme le montrent les graphiques 1 à 9, l'apparition de l'anticorps bloquant est généralement plus tardive que celle des 2 autres anticorps étudiés. On constate l'existence dans les sérums d'un anticorps incomplet pendant les périodes où l'agglutination a disparu.

D'autre part, à la fin de la période d'observation, soit jusqu'à 2 ans 1/2 après l'infection, nous avons 44 chèvres chez qui les réactions d'agglutination sont négatives depuis des temps plus ou moins longs avant l'autopsie : 25 de ces chèvres ont des anticorps bloquants dans leur sérum, 19 n'en ont pas au moment de leur mort ou dans les semaines qui précèdent. Cet état immunologique est indépendant de la mise en évidence, ou non, de *Br. melitensis* dans les tissus prélevés : sur 33 chèvres positives par les cultures de tissus, 6 ont des agglutinines, 14 des anticorps bloquants ; 13 chèvres n'ont pas cet anticorps bloquant au moment de l'autopsie.

Ces résultats expliquent des contradictions rencontrées dans la littérature sur la valeur ou la date d'apparition et de disparition de l'anticorps incomplet au cours de la Brucellose. Ils nous permettent aussi d'insister sur la nécessité d'utiliser des séries d'animaux les plus grandes possibles avant de tirer des conclusions sur la validité de tel ou tel examen.

2° Présence d'anticorps incomplet dans les sérums agglutinants.

TABLEAU 19

*Titres d'anticorps incomplet (Coombs) dans 452 sérums de chèvres agglutinant.*

Titres d'agglut.	Titres des anticorps incomplets						Totaux des agglut.	Totaux des anticorps incomplets
	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640		
1 : 10.....	81	48	88	4	2	2	270	225
1 : 20.....		20	37	4	4	1	80	66
1 : 40.....			26	5	4	4	49	39
1 : 80.....				5	5	2	25	12
1 : 160.....					14		22	14
1 : 320.....						2	6	2
Totaux des anticorps incomplets.....	81	68	151	18	29	11	452	358

Nous avons recherché l'existence concomitante d'anticorps agglutinant et d'anticorps incomplet dans les 452 sérums (tableaux 19). Même en tenant compte du fait que le nombre des sérums fortement agglutinants est petit, on peut aisément admettre que la présence des deux anticorps dans le même échantillon est d'autant plus probable que le titre d'agglutination est faible.

3° Rapports entre les titres d'agglutination et de fixation du complément.

Au long des pages qui précèdent, dans les paragraphes consacrés aux résultats des cultures, nous avons vu que les deux réactions d'agglutination et de fixation du complément variaient souvent dans des directions opposées ; cela est confirmé par les *graphiques* 1 à 9. D'autre part, rappelons que la corrélation la meilleure entre la présence de *Br. melitensis* dans un échantillon et une réaction sérologique positive dans le sang prélevé le même jour se constate avec la réaction de fixation du complément.

Le tableau 20 permet de compléter notre opinion sur ce point. Il ne contient que les sérums provenant de chèvres infectées par *Br. melitensis* depuis au moins une semaine. N'y figurent pas en particulier 169 sérums prélevés sur les chèvres « contact » avant la date présumée de l'infection.

On constate :

i) En tout état de cause, 567 sérums restent négatifs à l'une et l'autre réaction.

ii) Il y a plus de sérums complètement négatifs à la réaction de fixation du complément (1 321/2 697, soit 48,9 p. 100) que de sérums complètement négatifs à la réaction d'agglutination (906/2 697, soit 33,5 p. 100).

TABLEAU 20

*Corrélation entre les titres d'agglutination et les titres de fixation du complément.*

Titres des fixations du complément	Titres des réactions d'agglutination									Totaux
	—	10	20	40	80	160	320	640	1 280	
—	567	338	243	122	43	5	1	2		1 321
2	65	58	27	24	22					196
4	61	45	58	27	8			1		200
8	49	73	63	19	4	1				209
16	58	61	46	32	13	2	1	1		214
32	49	45	38	26	29	8	1			196
64	30	22	16	18	28	17	3	1		135
128	16	19	8	3	16	31	13	1		107
256	10	5	4	2	8	14	9	2		54
512	1	1		1	1	13	24	17	7	65
Totaux . .	906	667	503	274	172	91	52	25	7	2 697

169 sérums ne figurent pas sur ce tableau : prélevés sur les chèvres « contact » avant la date présumée de l'infection.

III) Si l'on considère que les titres d'agglutination de 1 : 10 et 1 : 20 ne sont que des titres de « suspicion » puisqu'on peut les rencontrer chez des animaux sûrement indemnes de Brucellose, on remarque alors que 1 170 sérums (43,3 p.100) ne sont que « suspects » à l'agglutination.

Si l'on admet — arbitrairement, car nous n'avons pas encore trouvé un sérum provenant d'un animal indemne de Brucellose qui ait donné ce titre — que le titre de 1 : 2 est « suspect » à la réaction de fixation du complément, alors seulement 196 sérums (soit 7,34 p. 100) sont suspects à la fixation du complément.

IV) Si l'on examine les sérums qui, négatifs à une réaction, ont un titre quelconque à l'autre réaction : sur 754 sérums négatifs à la fixation du complément, 581 (77 p. 100) ont donné une agglutination « suspecte » et seulement 173 (23 p.100) une agglutination positive ; sur 339 sérums négatifs à la réaction d'agglutination, là les proportions sont inversées : seulement 65, soit 20 p. 100 ont une fixation du complément « suspecte » et 274 (80 p. 100) une réaction de fixation du complément positive.

On peut, croyons-nous, conclure de cet ensemble (les faits relatés ici et ceux décrits dans les paragraphes antérieurs) que la réaction de fixation du complément est, au moins dans le cas de la Brucellose des chèvres, une réaction peut-être un peu moins sensible mais sûrement plus spécifique que la réaction d'agglutination.

4° Rapports entre la recherche de l'anticorps incomplet et la fixation du complément quand l'agglutination est négative.

Nous disposons de 906 sérums provenant de chèvres infectées par *Br. melitensis* et dont la réaction d'agglutination est négative. Pour chacun de ces sérums on a effectué la recherche de l'anticorps incomplet et celle de la fixation du complément. Certains titres de la réaction selon COOMBS dépassent le 1 : 80 mais, comme en général nous nous sommes arrêtés à cette dilution, le tableau 21 qui résume les résultats obtenus est établi jusqu'à ce titre de 1 : 80 pour l'anticorps incomplet.

TABLEAU 21

*Sérums à agglutination négative. Présence d'anticorps incomplet et réactions de fixation du complément.*

Titres de la fixation du complément	Titres de l'anticorps incomplet					Nombre de réactions	
	—	10	20	40	80	Total	Anticorps incomplet positif
—	233	124	78	56	76	567	334
2	14	24	12	12	3	65	51
4	4	7	21	13	16	61	57
8	4	6	5	19	15	49	45
16	2	2	8	19	27	58	56
32	1	2	4	10	32	49	48
64		2	1	2	25	30	30
128					16	16	16
256				2	8	10	10
512				1		1	1
Totaux	258	167	129	134	218	906	648
Totaux des FC +	25	43	51	78	142	339	

a) Sur 906 sérums à agglutination négative, 258 (28, 5 p. 100) ne contiennent pas non plus d'anticorps incomplets. Ces sérums correspondent à des prélèvements faits à la fin ou au début de la maladie.

b) 648 sérums contiennent l'anticorps incomplet : 314 (48, 4 p. 100) ont une sensibilisatrice. Il reste 233 échantillons de sang complètement négatifs à toutes les réactions pratiquées ; ces échantillons sont ceux prélevés dans les premières semaines qui suivent l'infection.

c) Sur 258 sérums négatifs à la fois pour l'agglutination et l'anticorps incomplet, 25 (10 p. 100) ont une sensibilisatrice, permettant ainsi le diagnostic sérologique de Brucellose.

#### E. — Conclusions générales sur la sérologie

Les chèvres sont de médiocres producteurs d'anticorps agglutinant anti-*Brucella* (cf. également, ELBERG et MEYER, 1958).

La réaction d'agglutination à elle seule n'est pas suffisante pour infirmer, voire affirmer quand le titre est faible, un diagnostic de Brucellose chez la chèvre.



La fixation du complément est une réaction très spécifique dont la sensibilité paraît moindre que celle de l'agglutination, peut-être parce qu'elle ne donne que rarement des résultats « suspects ».

La recherche de l'anticorps incomplet ne suffit pas à elle seule pour établir un diagnostic de Brucellose ; cette réaction est parfois négative dans les sérums des chèvres cependant infectées.

En bref, et en l'état actuel de la question, il est nécessaire d'utiliser les 3 réactions : d'abord l'agglutination simple à exécuter ; puis les deux autres, sur tous les sérums négatifs ou suspects à l'agglutination.

Nous pouvons raisonnablement dire que tous les résultats positifs obtenus avec les trois réactions en combinaison correspondant à des chèvres qui hébergent des *Brucella*. Et seulement près de 10 p. 100 des sérums examinés seront négatifs à tort, avec l'exception notable et importante des jeunes chèvres infectées *in utero* ou à la naissance qui restent sérologiquement négatives (RENOUX, 1962).

Les titres valables sont :

Agglutination : égal ou supérieur à 1 : 40 (50 Unités) <sup>(1)</sup> ;

Fixation du complément : égal ou supérieur à 1 : 4 ;

Anticorps incomplet (COOMBS) : égal ou supérieur à 1 : 10.

## CONCLUSIONS

Pour la première fois, croyons-nous, un troupeau de chèvres infectées par *Br. melitensis* a été suivi et observé pendant plus de 2 ans après l'infection. Les résultats obtenus permettent d'ajouter à nos connaissances sur la Brucellose caprine, mais posent aussi quelques questions nouvelles.

On confirme la pauvreté, voire l'absence, des signes cliniques de la Brucellose chez les chèvres ; aussi bien n'en avons nous point parlé dans les pages qui précèdent. Cette pauvreté des signes cliniques contraste avec la distribution extensive de *Br. melitensis* dans tout l'organisme des chèvres.

Cependant, aucun organe ou tissu n'est positif à tout coup. Pour isoler les *Brucella* d'un animal autopsié, il faut nécessairement multiplier les lieux de prélèvements et les méthodes d'ensemencement. L'ensemencement après broyage de l'ensemble des échantillons, préalablement congelés, paraît donner des résultats supérieurs aux autres techniques employées.

La mise en évidence d'un seul échantillon contenant *Br. melitensis*, cet échantillon pouvant être n'importe quel organe prélevé à n'importe quel moment après l'infection, pose un problème doctrinal : de tels animaux sont-ils des porteurs sains pré-munis, ou seront-ils les agents de dissémination de nouveaux cas de Brucellose ? Il apparaît que seule une attitude prudente soit possible et qu'il faille considérer de telles chèvres comme étant potentiellement dangereuses. Aucun argument expérimental ne permet de penser que la découverte, après autopsie, d'un seul gîte à *Br. melitensis* correspondrait à une chèvre en voie de guérison.

La Brucellose n'est pas obligatoirement une maladie dont les chèvres ne puissent

(<sup>1</sup>) Ce titre est celui qui avait été retenu par un récent Comité F.A.O./O.M.S. d'Experts de la Brucellose (1958)

guérir. On peut diviser un troupeau de chèvres brucelliques en 3 groupes : (a) celles qui sont, d'emblée, résistantes et ne manifesteront leur maladie que par des réactions sérologiques positives, sans qu'on puisse isoler *Brucella* : (b) celles qui guérissent après une maladie qui durera de 15 à 18 mois ; (c) les chèvres qui, encore infectées au bout de 2 ans, peuvent être considérées comme des porteurs chroniques.

On confirme que l'excrétion de *Br. melitensis* par le lait peut être absente, brève, irrégulière ou chronique. Cette excrétion chronique peut durer 5 mois. Nous avons constaté la présence de *Br. melitensis* dans les sécrétions lactées 114 à 33 semaines avant la mise bas ; vérifiant ainsi une notion nouvelle précédemment établie (RENOUX et *al.*, 1956 b) : des chèvres peuvent éliminer les *Brucella* par leur lait plusieurs mois avant la fécondation.

Ces divers faits (excrétion irrégulière ou antérieure à la fécondation) augmentent le danger de propagation de la Brucellose, à l'homme en particulier. En effet, pour être efficace, la surveillance épidémiologique du troupeau devrait être quasi constante.

L'excrétion vaginale de *Br. melitensis* est de beaucoup plus longue durée qu'il n'est classiquement admis, puisque nous l'avons constatée pendant 33 semaines consécutives chez la même chèvre.

Les sécrétions vaginales peuvent, très fréquemment, contenir *Br. melitensis* bien avant toute fécondation ou mise en bas ; par exemple, 9 chèvres ont fourni des échantillons vaginaux positifs de 63 à 7 semaines avant la mise en bas, et uniquement avant. Cette constatation nouvelle, (RENOUX et *al.*, 1956 d) paraît de quelque importance pratique et doctrinale.

Aucun signe clinique n'a de valeur diagnostique dans la Brucellose caprine. Pas même l'avortement qui n'est pas aussi fréquent qu'on a bien voulu le dire et qui, d'ailleurs, peut être dû à de nombreuses autres causes (parasites, virus, trauma, etc.).

L'hémoculture, trop peu fréquemment positive et difficile à pratiquer sur le terrain, ne saurait être une méthode usuelle de diagnostic de la Brucellose caprine.

De l'ensemble de nos constatations actuelles qui recoupent les recherches antérieures, nous pensons que le diagnostic biologique de la Brucellose caprine, en l'état actuel de la question, pourrait reposer sur les éléments suivants :

1° Cultures de laits, de mucus vaginaux, de placenta et éventuellement des avortons et mort-nés.

2° Dépistage par la réaction aux antigènes colorés dans le lait (RENOUX et CORDIER, 1952 ; Rapport O M S, 1958) qui devra être confirmé par les autres méthodes.

3° Réactions sérologiques. (a) une agglutination du lactosérum à n'importe quel titre égal ou supérieur à 1 : 10 indique la Brucellose caprine. (b) dans le sang :

1) Un titre d'agglutination égal ou supérieur à 1 : 40 (soit, 50 Unités internationales) est significatif de la Brucellose caprine.

II) Un titre de déviation du complément égal ou supérieur à 1 : 4 est significatif de la Brucellose caprine.

III) Un titre d'anticorps bloquant, ou incomplet, égal ou supérieur à 1 : 10 est significatif de la Brucellose caprine.

Ceci s'entend pour des réactions effectuées selon les techniques décrites. D'autre part, aucune de ces épreuves prises séparément n'est, à elle seule, suffisante pour permettre à tout coup un diagnostic de Brucellose chez une chèvre donnée.

Les titres « suspects » d'agglutination sont bien réellement « douteux » et ne per-

mettent aucune conclusion dans un sens ou dans l'autre. Chaque anticorps paraît évoluer pour son propre compte chez la plupart des chèvres qui pourront n'être positives qu'à une seule épreuve. Il est donc tout à fait nécessaire d'utiliser les 3 réactions sérologiques décrites. On commencera par la réaction d'agglutination, la plus simple à effectuer, puis on soumettra aux deux autres épreuves tous les sérums négatifs ou suspects à la recherche des agglutinines. Quand on aura affaire à des chèvres infectées à l'âge adulte par *Br. melitensis* la combinaison des trois réactions sérologiques permettra de détecter la Brucellose chez 90 p. 100 des animaux. Il existe une exception notable et importante : les jeunes chèvres infectées *in utero* ou très près de leur naissance, font une Brucellose totalement inapparente, sans la moindre manifestation sérologique (RENOUX, 1962).

L'anticorps bloquant ou incomplet n'est pas, en général, d'apparition plus précoce que les autres anticorps étudiés. Il disparaît entre 80 et 120 semaines après le début de l'infection chez environ la moitié des chèvres sans qu'il y ait de relation entre la présence de *Brucella* chez l'animal et la présence ou l'absence de cet anticorps. Cette constatation explique d'apparentes différences sur la valeur de l'anticorps incomplet de la Brucellose, selon divers auteurs ; il semblerait que de telles différences d'opinion soient essentiellement dues à des observations portant sur de petites séries.

Enfin, nous avons trouvé quelques souches dont les propriétés, surtout antigéniques, diffèrent de la souche infectante *Br. melitensis*, souche 53 H. 38. Les caractéristiques de ces nouvelles souches les rapprochent de *Br. ovis*, Buddle. Ce n'est pas la première fois qu'une telle constatation a pu être faite : RENOUX et MAHAFFEY (1955) avaient trouvé une souche semblable « C 16 A » chez une chèvre artificiellement infectée par *Br. melitensis* ; SACQUET et RENOUX (1957) ont décrit un « mutant aberrant » isolé du vagin d'une chèvre infectée par *Br. abortus*, souche B 112 ; plus récemment, ALTON (1960) a trouvé à Malte un certain nombre de « dissociated strains » chez des chèvres naturellement infectées.

La présence de telles souches qui sont différentes de la souche infectante, pose de nombreux problèmes de taxonomie et d'identification des *Brucella*. En tout cas, il paraît assez évident que les schémas d'identification classiques actuels ne sauraient répondre aux faits.

Reçu en décembre 1961.

## SUMMARY

### GOAT BRUCELLOSIS. I BACTERIOLOGICAL AND SEROLOGICAL INVESTIGATIONS IN GOATS DURING A TWO AND HALF YEARS PERIOD OF OBSERVATION.

Bacteriological and serological investigations on *Br. melitensis* infection were carried out in 59 brucellosis-free Tunisian goats for a period of two and a half years.

The technics employed (fully described) were cultures from blood, milk, vaginal discharges and autopsy specimens, identification of *Brucella* strains isolated from positive cultures, serological tests (agglutination, complement fixation, incomplete or blocking antibodies) and the whey agglutination test.

8707 cultures were done on 6950 tissue or body fluid specimens ; 336 were positive for *Brucella*. 2075 identifications of *Brucella* colonies were performed. 9149 serological tests were done on 3287 blood or milk samples.

A first group of 46 female animals were infected via the conjunctival route with  $2 \times 10^5$  *Br. melitensis* strain 53 H. 38 organisms (a dose corresponding to four or ten times the 1. D. 50 dose). A disease not unlike the natural one was thus induced.

9 months later, a second group of 13 female goats were allowed to mingle with the first group. Fecundation was provided by four bucks (three vaccinated, one unvaccinated).

The first clear sign of brucellosis in the « contact » group of goats appeared 5 months after intermingling with the artificially-infected flock; this followed by 12 days an abortion in the first group of animals. Throughout the period of intermixing of the two herds (« infected » and « contact »), it was proven that *Br. melitensis* were being eliminated in milk or vaginal discharges of the « infected » herd. Thus, *cross contamination of goats by Br. melitensis required a very massive elimination of organisms in the flock*, as is found during abortions.

The results were :

1. — 8 goats were resistant to *Brucella* infection; invasion by *Brucella* organisms was revealed only by the presence of circulating antibodies.

2. — 18 goats were cured after a disease lasting between 15 to 18 months (positive cultures during life and negative ones at necropsy). Certain goats have such an aptitude to infection; it depends on the intensity of the brucellar infection and on the duration of observation.

3. — 17 goats were infected with *Brucella* as revealed by pregnancy and autopsy. Specimens of their milk and vaginal discharges never contained *Brucella* organisms. A positive blood culture was never obtained from these animals.

4. — 16 goats were culturally positive during their life and necropsy.

5. — The 33 goats described in paragraphs three and four are to be considered as chronic *Brucella* carriers.

6. — The results of cultures at necropsy allow us to state :

A. — It is necessary to obtain cultures from multiple and varied samples of organs or tissues, since positive *Brucella* cultures frequently were obtained only from a single organ per animal such as the spleen, liver, lung, udder or various lymph nodes.

B. — It is necessary to culture both cut section and ground tissues; culture of the cut surface of an organ is often negative, while culture of the same specimen ground is positive for *Brucella*, and vice-versa. Mass disruption of all tissue samples of a given animal and culture of this material often succeeded in showing the presence of *Brucella* infection after other technics had fail.

C. — It is absolutely impossible to say that an animal is *Brucella*-free after necropsy if the number of samples taken for culture are too few, regardless of the choice of organs cultured.

D. — *The finding of a single tissue culture positive for Brucella at postmortem does not permit to conclude that this animal if he had continued to live would have overcome its disease by itself.*

7. — *Brucella* bacteremia is a rare occurrence in goats; by a weekly sampling procedure only 1,5 p. 100 of blood cultures were positive. On the average, in the positive goats, bacteremia begins seven to eight weeks after infection and persists for six weeks. Even if abortion ensues, a positive blood culture is unobtainable after five months of infection.

8. — 11 placenta were cultured; 9 harbored *Br. melitensis*.

9. — Vaginal discharges were *Br. melitensis*-positive in about 30 p. 100 of goats. One to eleven samples per animal were positive. Most of the goats discharged *Br. melitensis* in their vaginal secretions long before parturition. In 9 animals, culturally positive vaginal discharges were obtained from 7 to 63 weeks before parturition, but never after. Chronic excretion of *Brucella* in vaginal discharges were observed for as long as 33 weeks.

10. — More than 27 p. 100 of goat milk samples were positive for *Brucella*. *Brucella* organisms were grown out more often from the sediment after milk centrifugation than from the cream layer. Milk excretion in goats may be irregular, brief or chronic (lasting for five months). *Br. melitensis* frequently was present in goat's milk 34 to 114 weeks before mating.

The whey agglutination test was negative in 3 p. 100 of the bacteriologically-infected milk samples. On the other hand, a positive whey test did not always indicate *Brucella* organisms in the milk. No correlation existed between milk and blood agglutinins, although some relationship seemed to exist between the blood complement fixation and the whey agglutination test. Positive milk cultures were always associated with a positive serological or milk test.

11. — Identification: The great majority of bacterial colonies cultured out from animal specimens were smooth *Br. melitensis*. However, cultures from *postmortem* tissue samples of three goats and from a milk sample of a fourth animal were « atypical » in that their antigenic structure resembled *Br. ovis*, Buddle, but they grew in an atmosphere without added carbon dioxide. Strains isolated from other tissue sources in three of these goats were typical smooth *Br. melitensis*.

12. — Serological tests.

A. — Irrespective of the titre, the first positive serological test was observed after only three to five weeks after infection. Some goats were bacteriologically positive before the appearance of serological antibodies. In many instances, months elapsed before the finding of a significant agglutination or complement fixation titre in the blood.

B. — Many (at least 9) serological curves are found during the course of brucellosis in goats. One may find a transitory disappearance of agglutinins for some weeks, complement fixation tests

positive when agglutination tests are negative or vice-versa, or agglutinin titres may remain low (about 25 International Units) during the entire course of the disease. Serological antibodies were not found in seven goats during their course of disease, although they are proven infected by gestations and/or cultures.

C. — The agglutination prozone phenomenon was found in some goats. This phenomenon is due to the co-existence in the same serum of incomplete and agglutinating antibodies.

D. — Complement fixation prozone were rare, being found in the sera of only a few goats. There was no relationship between the prozone phenomenon in the complement fixation and the agglutination tests.

E. — Generally, blocking or incomplete antibodies were not found earlier than agglutinins or C. F. antibodies. They were present when agglutination tests were transiently negative. At autopsy, incomplete antibodies were inconsistently found in the blood; they did not have any relationship to the bacteriological status of the animal.

F. — There was no correlation in goats between the agglutination titre and a positive culture taken at the same time. It seemed that some relationship existed between the complement fixation test and the positivity of cultures.

G. — An agglutination titre of at least 50 I. U. is a significant titre for caprine brucellosis. As described, a titre of 1 : 4 or higher is significant in the complement fixation test. A titre of 1 : 10 or higher is significant in the blockings tests.

H. — The combined use of these three serological tests will reveal brucellosis in 90 p. 100 of infected goats. With the important exception of goats infected *in utero* by *Br. melitensis*: they always remain negative at serological tests.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALESSANDRINI A., SABATUCCI M., 1931. La tripaflavina quale mezzo di differenziazione dei microbi del genere *Brucella*. *Ann. Igiene*, **41**, 29-34.
- ALTON G. G., 1960. The occurrence of dissociated strains of *Brucella melitensis* in the milk of goats in Malta. *J. comp. Path.*, **70**, 10-17.
- BUDDLE M. B., 1956. Studies on *Br. ovis* (n. sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. *J. Hyg.*, **54**, 351-364.
- BURNET ET., 1928. La thermo-agglutination et l'évolution de l'espèce *Brucella*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **17**, 128-146.
- CASTANEDA M. R., 1947. A practical method for routine blood-cultures in brucellosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Md.*, **64**, 114-115.
- COMITÉ MIXTE F. A. O./O. M. S. DE LA BRUCELLOSE, 1953. Deuxième Rapport, 22, *Org. mond. Santé : sér. Rapp. tech.*, **67**.
- COMITÉ MIXTE F. A. O./O. M. S. D'EXPERTS DE LA BRUCELLOSE, 1958. Troisième Rapport, 19-20. *Org. mond. Santé : sér. Rapp. techn.*, **148**.
- ELBERG S. S., MEYER K. F., 1958. Caprine immunization against brucellosis. A summary of experiments on the isolation, properties and behaviour of a vaccine strain. *Bull. Org. mond. Santé*, **19**, 711-724.
- GRIFFITHS J. J., 1947. Agglutination and an agglutinin « blocking » property in serums from known cases of brucellosis. *Publ. Health Rep.*, **62**, 865-875.
- HENRY B. S., 1933. Dissociation in the genus *Brucella*. *J. infect. Dis.*, **52**, 374-381.
- HUDDLESON I. F., 1943. *Brucellosis in man and animals*, 30-31, 2<sup>e</sup> Édition révisée, The Commonwealth Fund, New York.
- HUDDLESON I. F., 1952. *Studies in Brucellosis III*, 7-63, Michigan State College, Agricultural experimental Station, East Lansing.
- PICKETT M. J., NELSON E. L., 1955. Speciation within the genus *Brucella*. IV. Fermentation of carbohydrates. *J. Bact.*, **69**, 333-336.
- RENOUX G., 1950 (a). Anticorps bloquant dans le sérum de sujets brucelliques. I. Leur mise en évidence. *Ann. Inst. Pasteur*, **78**, 798-800.
- RENOUX G., 1950 (b). Anticorps bloquant dans le sérum de sujets brucelliques. II. Leur rôle dans le phénomène d'agglutination paradoxale. *Ann. Inst. Pasteur*, **79**, 232-234.
- RENOUX G., 1953. L'anticorps bloquant dans la brucellose. Rôle dans le phénomène de zone. Importance pour le diagnostic de la brucellose caprine. *Atti. VI Congr. internaz. Microbiologia, Rome*, **2**, 341-343.
- RENOUX G., 1954. Sur un milieu sélectif pour l'isolement de *Br. melitensis*. *Ann. Inst. Pasteur*, **87**, 325-333.
- RENOUX G., 1957 (a). Étude sur la Brucellose ovine et caprine. XV. Diagnostic sérologique de la Brucellose individuelle des chèvres artificiellement infectés par *Br. melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **34** 207-225.

- RENOUX G., 1957 (b). Études sur la Brucellose ovine et caprine. XVI. Essais de dépistage de la Brucellose par réactions sérologiques comparées aux cultures chez des chèvres tuées aux abattoirs de Tunis. Présence probable de tolérance immunitaire. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **34**, 227-229.
- RENOUX G., 1957 (c). La Brucellose des animaux sauvages et des insectes. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **34**, 391-404.
- RENOUX G., 1957 (d). Brucellosis in goats and sheep. In Brandly C. A., Jungheer E. L., *Advances in veterinary sciences* vol. 3, 241-273, Academic Press, New-York.
- RENOUX G., 1958 (a). La Brucellose chez les chèvres. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **35**, 39-48.
- RENOUX G., 1958 (b). Préparation des sérums monospécifiques anti-*abortus* et anti-*melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **35**, 87-94.
- RENOUX G., 1962. Immunisation des caprins et ovins contre la Brucellose par un vaccin tué, en excipient huileux. *Rec. Méd. vét.*, **136**, 281-302.
- RENOUX G., 1961. Brucellose caprine. 2<sup>e</sup> Partie. Influence de la Brucellose sur les gestations. Comportement des produits. *Ann. Zootechn.*, sous presse.
- RENOUX G., ALTON G., 1955. Études sur la Brucellose ovine et caprine. IV. Réactions sérologiques dans le sang et le lait de chèvres récemment infectées par *Br. melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **32**, 523-550.
- RENOUX G., CORDIER G., 1952. Le dépistage de l'infection brucellique chez la chèvre par une épreuve utilisant des antigènes colorés ajoutés au lait. *Rev. Immunol.*, **16**, 312-319.
- RENOUX G., KARVOUNARIS P. A., 1959. Études sur la Brucellose ovine et caprine. XXI. Étude comparative des cultures obtenues après infection artificielle par *Brucella melitensis* chez des brebis d'origine suédoise ou tunisienne. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **63**, 3-27.
- RENOUX G., MAHAFFEY L. W., 1955. Sur l'existence probable de nouveaux antigènes des *Brucella*, avec un nouveau schéma proposé pour représenter la répartition des antigènes. *Ann. Inst. Pasteur*, **88**, 528-352.
- RENOUX G., ALTON G., MAHAFFEY L. W., 1955. Études sur la Brucellose ovine et caprine. II. Etablissement de la D. 50 d'une souche de *Br. melitensis* pour la chèvre et la brebis. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **32**, 65-79.
- RENOUX G., ALTON G., MAHAFFEY L. W., 1956 (a). Études sur la Brucellose ovine et caprine. VIII. Présence et répartition de *Br. melitensis* dans les organes et tissus de brebis artificiellement infectées. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **33**, 403-407.
- RENOUX G., ALTON G., SACQUET E., 1956 (b). Études sur la Brucellose ovine et caprine. X. Élimination de *Br. melitensis* par le lait de chèvres suédoises artificiellement infectées. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **33**, 413-420.
- RENOUX G., ALTON G., AMARASINGHE A., SACQUET E., 1956 (c). Études sur la Brucellose ovine et caprine. VII. Présence et répartition de *Br. melitensis* dans les tissus et organes de caprins artificiellement infectés. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **33**, 397-402.
- RENOUX G., ALTON G., AMARASINGHE A., SACQUET E., 1956 (d). Études sur la Brucellose ovine et caprine. IX. Excrétion vaginale de *Br. melitensis* chez les chèvres artificiellement infectées. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **33**, 409-412.
- SACQUET E. et RENOUX G., 1957. Une souche atypique de *Brucella* isolée d'une chèvre vaccinée par vaccin vivant. *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 262-266.
- SACQUET E., RENOUX G., 1961. Perte graduelle de l'activité bactériostatique des milieux contenant de la thionine, utilisés pour l'identification des *Brucella*. *Bull. Org. mond. Santé*, **24**, 121-122.
- TAYLOR R. M., LISBONNE M., VIDAL L. F., HAZEMANN R. H., 1938. Recherches sur la Fièvre Ondulante en France. *Bull. Org. Hyg. S. D. N.*, **7**, 503-551.