

# La brucellose bovine au Sénégal

par J. CHAMBRON

## RÉSUMÉ

Une enquête sur la brucellose bovine au Sénégal vient d'être terminée. L'examen des laits par la méthode du test de l'anneau a montré que cette maladie était largement distribuée dans l'ensemble du pays.

Les tests sérologiques (séro-agglutination lente en tubes) ont permis de constater que 13,3 p. 100 des sérums éprouvés étaient positifs tandis que, dans les mêmes troupeaux, on pouvait observer 8,5 p. 100 d'animaux présentant des signes cliniques de brucellose (hygromas, avortements).

Au cours de cette enquête, ces souches ont été isolées : 5 ont les caractères de *Brucella melitensis* var. *abortus*, tandis que la sixième appartiendrait au type *Brucella melitensis* var. *intermedia* (classification de Renour).

Un programme de prophylaxie est proposé et ses modalités d'application sont discutées.

## I. — INTRODUCTION

La brucellose, maladie animale transmissible à l'homme, est une maladie assez mal connue en Afrique. Cependant, de nombreux pays la signalent dans leurs rapports techniques annuels. Le Kenya estime, en 1960, qu'elle « devient économiquement importante, bien que non signalée dans les élevages de bétail amélioré des régions d'élevage indigène ». Au Tanganyika, en 1961, elle est dépistée dans plusieurs troupeaux administratifs et dans deux fermes privées ; la vaccination au B 19 est utilisée. Au Cameroun, en 1961, après qu'elle ait été signalée, des sondages sont pratiqués à Wakwa (Ngaoundéré) ; ils révèlent de nombreux suspects (jusqu'à 60 p. 100). En 1962, l'éradication est entreprise par dépistage sérologique ou lacto-agglutination et vaccination au B 19. En Rhodésie du Sud, en 1960, on rend la brucellose responsable de la majorité des cas de stérilité bovine. La vaccination au B 19 est largement employée. Au Niger (rapport 1959-1960) une enquête par le *ring-test* donne un taux d'infection des troupeaux de 25 à 40 p. 100, et il est signalé

que « la brucellose existe à l'état endémique dans toutes les zones d'élevage ». En Côte-d'Ivoire, en 1960, le *ring-test* permet de déceler la maladie dans certaines régions. Les génisses impubères, les vaches vides et les gestantes de moins de trois mois sont vaccinées au B 19.

Si nous consultons les cartes de distribution de la brucellose bovine établies par l'I. B. E. D. en 1961 et 1962, nous constatons que la maladie est signalée de façon enzootique sporadique dans les pays suivants : Sénégal, Sierra-Léone, Ghana, Libéria, Nigeria, Niger, Tchad, Centrafrique, Congo-Léopoldville, Union Sud-Africaine, Tanganyika, Uganda, Kenya, Rhodésie du Sud

Des foyers de maladie sont signalés pour la même période dans les pays suivants : Nigeria, Angola, Congo-Léopoldville, Centrafrique, Betchuanaland, Union Sud-Africaine, Mozambique, les deux Rhodésies, Nyassaland, Rwanda-Burundi, Tanganyika (10).

De nombreux auteurs se sont intéressés à la brucellose du bétail, soit pour essayer d'en établir le diagnostic de façon certaine, soit pour essayer de préciser son épidémiologie et son rôle économique. En 1939, SISSOKO (58) observe, à la

ferme de l'Institut Pasteur de Dakar, 4 avortements dans un troupeau de 21 brebis originaires de Moro ; les signes cliniques plaident en faveur de la brucellose ; neuf séro-diagnostic positifs confirment l'observation clinique. Une enquête à l'abattoir de Dakar révèle plusieurs animaux à sérum positif (une vache, deux brebis, une chèvre). MALBRANT (35), en 1943, pense que de nombreux avortements constatés au Tchad, d'origine brucellique, sont déclenchés par une trypanosomiose primaire. CAMARA (9) au Sénégal, en 1948, étudie une maladie des bovins appelée *bakkalé* par les éleveurs et caractérisée par des lésions chroniques des bourses séreuses (hygroma ou bursite), des avortements en série.

Après avoir éliminé la trypanosomiose, il conclut qu'il s'agit vraisemblablement de brucellose. CHALUMEAU (12), en 1950, arrive à la même conclusion après une enquête dans la même région du Sénégal et en Haute-Volta. Il insiste sur la fréquence des lésions synoviales chroniques, surtout articulaires, chez des animaux atteints de brucellose clinique. En Guinée-Portugaise, TENDEIRO et GOMEZ (59), en 1952, font une étude comparative des lésions chroniques synoviales, des avortements et des résultats de séro-agglutination, chez 107 bovins. Sans pouvoir affirmer que les porteurs de lésions synoviales sont des animaux atteints de brucellose, leur travail conclut à une forte probabilité dans ce sens. En 1954, BLANCHARD et COULIBALY (4) mènent une enquête en Haute-Volta et étudient 346 laits de bovins par la méthode de l'anneau : plus de 10 p. 100 se révèlent positifs. Au Tchad, en 1955, SACQUET (56), au cours d'une enquête sur le bétail, trouve 18 p. 100 de tests de l'anneau positifs sur des laits de mélange, 12 p. 100 de séro-agglutinations positives, et il isole 12 souches. Il note la rareté des avortements. En 1956, dans le même territoire, PERREAU (43) mène une enquête en milieu bovin qui porte sur 978 *ring-tests* et 1933 séro-agglutinations. Le taux moyen d'infection de troupeau est de 12 p. 100 ; il peut aller jusqu'à 41 p. 100. Les avortements sont rares. En 1957, au Mozambique, AMARO (1) dresse un historique de la maladie et des moyens de lutte utilisés : l'éradication est envisagée en cinq ans. En 1958, DAFAALLA et KHAN (13) étudient l'épidémiologie de la maladie au Sudan, à la

suite de cas de mélitococcie humaine. Ils établissent le rôle primitif des chèvres infectées qui contaminent les vaches laitières et l'homme par le lait des vaches atteintes. *Brucella melitensis* et *Brucella abortus* sont isolées. Chaque année, cinquante cas humains sont signalés. EL NASRI (19) mène en 1960 une enquête sérologique dans ce même pays et trouve 16 à 18 p. 100 de réagissants. En 1961, THIENPONT et Coll. (60) étudient l'hygroma des bovins au Rwanda-Burundi ; ils concluent à son origine brucellique certaine et notent la fréquence de cette lésion caractéristique de l'évolution clinique de la maladie. En 1962, DAFAALLA (14) analyse 9.000 sérums ; 15 p. 100 sont positifs. Le pourcentage d'infection est élevé mais les avortements sont rares et l'importance économique est faible. Le danger de contamination humaine n'est pas négligeable. VAN DRIMMELEN (54) en Afrique du Sud, MAHLAU et HAMMOND au Tanganyika (34) recherchent la maladie en milieu indigène. MAHLAU trouve avec le *ring-test* un taux moyen d'infection de 13,5 p. 100 chez les zébus.

En ce qui concerne la maladie humaine, quelques cas sont relatés. A Saint-Louis du Sénégal, BOURRET (7) la décèle dès 1910, MERCIER et BORDES (36) en 1936. BOURGUIGNON (5) isole pour la première fois *B. melitensis* au Congo Belge en 1933. RENOUX (46), PERGHER et NOEL (42) signalent en 1936 des cas au Rwanda-Burundi. De nouveau à Dakar, en 1938, *B. melitensis* est isolée chez un militaire par PELTIER et Coll. (41). De nouveaux cas sont signalés par LEBLANC (30) au Kivu, SICE (57) au Soudan (Mali), ELMES (18) en Nigeria, MOUSTARDIER (39), CECCALDI et GUILHAUMOU (11) en Afrique Equatoriale française, MERLE (37) au Niger. BOURREL et SOUVESTRE (6) décrivent trois cas de mélitococcie vertébrale au Soudan (Mali). Enfin, en 1961, ARMENGAUD et Coll. (2) dépistent quatre cas de brucellose humaine (*B. melitensis*) dans le même village du Sénégal, dans la région de Diourbel.

Ainsi, cette rapide revue bibliographique montre à la fois le peu de données précises que nous possédons encore sur cette maladie, secondaire par rapport aux grandes épizooties africaines, et l'intérêt que de nombreux chercheurs lui portent vu les risques de contamination humaine par l'animal brucellique et la gravité de cette maladie humaine.

Au Sénégal, plus particulièrement, la maladie, suspectée, est mal connue. Un avortement épizootique des bovins est bien décrit avec ses symptômes cliniques très précis : avortements répétés de plus en plus près du terme, guérison apparente spontanée, séquelles chroniques possible sous forme de lésions des bourses séreuses : hygromas, bursites, etc... CAMARA (9) signale en 1948 son existence dans les cercles de Tambacounda et de Kédougou. Il semble sévir jusqu'en Guinée. CHALUMEAU (12) le signale encore « dans toute la Casamance, aussi bien dans les régions humides de la Basse-Casamance (Ziguinchor, Bignona) que dans les régions plus sèches, voir latéritiques, de la Haute-Casamance (Kolda, Velingara). Cet auteur constate la fréquence des hygromas, le plus souvent articulaires, évoluant rapidement vers la chronicité chez les femelles adultes. Pour les éleveurs, cette atteinte des bourses séreuses se traduisant par des lésions chroniques constitue une maladie qu'ils appellent « *bakkalé* ». L'auteur, faisant un rapprochement entre cette maladie et l'avortement épizootique, constate qu'il n'y a pas de parallélisme strict entre l'existence du *bakkalé* et les réactions positives enregistrées avec l'épreuve d'intra-dermo-réaction à la mélitine. Il n'ose pas affirmer catégoriquement que le *bakkalé* n'est qu'une manifestation chronique de la brucellose, mais « une forte présomption subsiste cependant en faveur d'une origine brucellique, puisque 31 p. 100 des vaches à *bakkalé* ont donné une réaction positive à la fois au test à la mélitine et à la séro-agglutination sur lame ». Les éleveurs ne font aucun rapprochement entre les deux maladies, l'avortement restant une conséquence inévitable de la pratique de l'élevage.

C'est dans le but de préciser l'importance réelle de la maladie animale qu'une enquête a été ouverte depuis 1960 au Laboratoire National de Recherches Vétérinaires de Dakar. Elle s'est déroulée en trois étapes :

— enquête préliminaire systématique, utilisant la méthode du *ring-test* sur des laits individuels ou de mélange, dans toutes les régions du Sénégal,

— enquête sérologique individuelle permettant par la séro-agglutination lente de Wright de dépister les animaux brucelliques au sein des troupeaux reconnus infectés,

— isolement de souches locales de *Brucella* et identification de l'espèce en cause par étude de ses caractères cultureux et antigéniques.

## II. — ENQUÊTE PRÉLIMINAIRE DANS TOUT LE SÉNÉGAL PAR LA MÉTHODE DU RING-TEST

### Technique

La méthode du *ring-test* fut établie par FLEISCHHÄUER (20) en 1937. Par la suite, elle a fait l'objet de très nombreuses publications. En 1951, ROSSI et DUTILLOY (55) après un rappel historique des travaux qu'elle a suscités, font une mise au point détaillée de la technique, de ses avantages et de ses limites. BRUCE (8) en 1962, précise l'importance de certains facteurs et décrit une méthode de dilution (VAN DRIMELEN, 1950) qui serait plus fidèle. Le *ring-test*, actuellement bien codifié, est très largement utilisé dans les programmes d'éradication de la brucellose de nombreux pays en tant que test de dépistage et de contrôle de routine. L'antigène est préparé selon la technique de BENTSEN (61). La technique de FLEISCHHÄUER est connue sous trois appellations différentes : *Abortus Bang Ringprobe* (A.B.R.), réaction de l'anneau, *ring-test* (R.T.) ; cette dernière appellation est couramment utilisée par les chercheurs de langue française.

Nous avons dans ce travail, adopté la méthode par centrifugation, préconisée par ROSSI et DUTILLOY, plus précise pour les laits douteux. L'antigène utilisé provient de l'Institut Mérieux.

### Les prélèvements

Il s'agit de laits de bovins. Les échantillons sont constitués par des laits de grands mélanges (marchés, collectivités), des laits de petits mélanges (5 à 6 animaux) et des laits individuels. La conservation des échantillons a été assurée par du Merseptyl à 1 p. 100 pour assurer une dilution finale en conservateur de 1/10.000 à 1/20.000. Des renseignements cliniques succincts sur les animaux accompagnent les échantillons. Un certain nombre d'animaux, pris de préférence parmi les animaux suspects *a priori* de brucellose (avortements, hygromas), a été testé dans chaque troupeau, à titre de sondage.

## Résultats

Cette enquête, commencée en 1960 et terminée en 1962, porte sur 297 prélèvements correspondant au lait de 768 vaches. Les résultats sont les suivants :

12 de grands mélanges : 3 positifs et 9 négatifs  
 136 de petits mélanges : 38 positifs et 98 négatifs  
 149 laits individuels : 60 positifs et 89 négatifs  
 9 laits de grands mélanges intéressant de 15

à 50 femelles par échantillon, qui se sont révélés négatifs, n'ont pas été comptés dans les résultats, car leur réponse est sans valeur par rapport à la technique utilisée (5 à 8 femelles au maximum par lait de mélange, pour qu'un seul animal positif soit capable de rendre l'échantillon positif). Les prélèvements proviennent de 124 troupeaux totalisant 5.349 animaux ; 56 troupeaux se révèlent infectés. Les résultats par région d'élevage sont les suivants : (Tableau I).

TABLEAU N° 1

Région	ring-test	Nombre de positifs	Nombre de troupeaux	Nombre de têtes	troupeaux infectés	troupeaux indemnes	troupeaux suspects
Sénégal oriental	94	14	31	1.251	6	3	22
Thiès	45	27	21	1.112	13	6	2
Casamance	98	35	21	962	12	4	5
Cap-Vert	12	4	18	866	4	7	7
Fleuve	27	15	21	847	15	0	6
Sine-Saloum	5	2	5	211	2	0	3
Diourbel	7	4	7	110	2	0	3
<b>Totaux</b>	<b>288</b>	<b>101</b>	<b>124</b>	<b>5.349</b>	<b>54</b>	<b>20</b>	<b>48</b>

Les troupeaux infectés sont ceux où un ring-test au moins est positif.

Les troupeaux suspects sont ceux où les ring-tests sont négatifs mais où des animaux présentent des signes cliniques suspectés d'origine brucellique (hygroma, avortement).

Le nombre élevé des réactions franchement positives observées (35 p. 100) justifie la continuation de l'enquête et permet d'orienter cette dernière dans les secteurs les plus suspects d'infection.

### III. — ENQUÊTE SÉROLOGIQUE PAR LA MÉTHODE DE SÉRO-AGGLUTINATION LENTE DE WRIGHT

Cette enquête a pour but :

— de confirmer les présomptions de brucellose obtenues par les ring-tests,

— d'étudier l'épidémiologie et la clinique de la brucellose compte tenu des conditions locales d'élevage

— de préciser le pourcentage d'infection des troupeaux des régions les plus atteintes. Pour cela, les prélèvements sont pratiqués dans une trentaine de troupeaux, sur toutes les femelles adultes. Les mâles sont écartés, bien qu'ils jouent un rôle non négligeable dans la propagation de la maladie en particulier, dans un simple souci de limitation des prélèvements.

### Technique

La séro-agglutination en tube est une méthode facile à réaliser en pratique et assez fidèle, bien qu'elle ne permette pas de distinguer les agglutinines vaccinales (B 19) des agglutinines d'infection. Le cas ne se pose pas ici, le bétail n'ayant jamais été vacciné contre la brucellose.

L'antigène est celui du Laboratoire régional des brucelloses de Montpellier. Le sérum est dilué au 1/10, 1/20, 1/40, etc... (0,2 ml de sérum dans le premier tube). La réaction se fait au

volume constant de 1 ml par tube (0,5 de sérum dilué et 0,5 ml d'antigène). Le liquide de dilution est du chlorure de sodium. La concentration a été portée de 0,85 p. 100 à 5 p. 100 (LEHNERT, 1959) pour supprimer les phénomènes de zone très fréquemment observés (31). L'agglutination est appréciée de 0 à ++++.

L'interprétation des résultats est la suivante :

**a) examen individuel :**

- agglutination au 1/10 sans signification,
- — au 1/20 (++++): suspicion,
- — au 1/40 (++) : suspicion,
- — au 1/40 (+++ ou ++++): positif.

**b) examen collectif pour l'ensemble d'un troupeau :**

— l'effectif contient au moins un animal positif : les suspects sont considérés comme positifs.

L'agglutination considérée positive en examen collectif (++ au 1/40 avec l'antigène de Montpellier) correspond à un titre agglutinant supérieur à 60 unités internationales par ml (appréciation de l'agglutination 50 p. 100 avec cet antigène de Montpellier et l'étalon international de sérum agglutinant).

Après la prise de sang à la jugulaire, le sérum est récolté dès rétraction du caillot, additionné de Merseptyl (MORTELMANS, 1953) et conservé à + 4° en brousse et à - 20° en laboratoire avant d'être analysé (38).

Au cours de l'enquête et dans le compte rendu des résultats, il nous a paru important de toujours compléter le résultat des séro-agglutinations en signalant la présence ou l'absence corrélatrice de signes cliniques pouvant être attribués à la brucellose. On peut ainsi, d'une part différencier les malades cliniques (avortement, hygroma ou bursite) à séro-agglutination positive des animaux considérés simplement comme infectés, chez lesquels seule la séro-agglutination est positive ; d'autre part, on peut mieux dégager la valeur pathognomonique exacte de ces symptômes cliniques d'après la fréquence à laquelle on les retrouve chez les animaux à sérum positif et chez ceux à sérum négatif.

Le nombre des malades cliniques permet seul de préciser l'importance de la maladie et son incidence sur l'économie.

### Résultats

Les résultats généraux des séro-agglutinations sont donnés dans le tableau II.

TABLEAU N°II

Résultats Généraux des Séro-Agglutinations (S.A.)

Lieu d'origine	Nombre de troupeaux	Nombre total de têtes	Nombre de S.A.	S.A. positives	S.A. positives + signes cliniques	S.A. négatives	S.A. négatives + signes cliniques	Nombre de troupeaux infectés	Nombre de troupeaux indemnes
Région de Thiès	17	1124	107	28	17	79	12	12	5
Région de Diourbel	5	2500	109	0	0	109	0	0	5
Région de la Casamance									
Ziguinchor.....	1	14	13	8	1	5	0	1	0
Bignona.....	4	200	13	11	11	2	2	3	1
Kolda-Vélingara.....	36	2950	809	95	38	716	9	23	13
TOTAUX.....	63	6788	1051	140	67	911	23	39	24

A sa lecture, on constate que peu de régions du Sénégal sont indemnes ; 8,5 p. 100 des animaux montrent des signes cliniques de brucellose (avortement, hygroma) et 13,3 p. 100 des analyses sérologiques sont positives.

En ce qui concerne la seule Haute-Casamance, intéressée principalement par notre enquête, notons que sur 835 sérums testés, 112 sont positifs, soit 13,4 p. 100 ; 7,4 p. 100 des animaux

montrent des signes cliniques de brucellose.

— **Appréciation du taux d'anticorps circulant chez les animaux positifs.**

Ce taux peut être apprécié en classant les différents sérums positifs, d'après leur titre agglutinant. Ces derniers se répartissent comme suit, pour le total des séro-agglutinations : (Tab. III).

TABLEAU N° III

Titre agglutinant	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
nombre de sérums/140	9	39	33	35	6	11	5	2
pourcentage	6,4	27,8	23,5	25	4,3	7,8	3,5	1,7

Pour la plupart des sérums, la positivité est donc très nette ; elle peut atteindre des taux élevés signant des brucelloses cliniques évolutives caractéristiques. Les taux les plus bas peuvent traduire des maladies aiguës en début ou en fin d'évolution et également des infections inapparentes, sans incidence pathologique.

— **Rapports entre les résultats sérologiques et la présence de signes cliniques d'origine supposée brucellique (avortement et hygroma) en Casamance.**

Ces rapports sont donnés dans le tableau IV exprimé en nombre d'animaux présentant l'un ou l'autre de ces signes cliniques :

TABLEAU N° IV

	Hygroma		Avortement			Hygroma et Avortement	Total
	1	2 ou +	1	2	3 ou +		
112 vaches positives	15	4	7	2	2	9	39
723 vaches négatives	5	1	1	1	3	0	11

On constate que :

— 34,8 p. 100 des vaches positives présentent des signes cliniques suspects,

— 1,5 p. 100 des vaches négatives présentent de tels signes.

Nous verrons que l'isolement de 6 souches de *Brucella* à partir de liquide de ponction d'hygroma vient démontrer la réalité de l'origine brucellique (d'ailleurs classique) de ces signes cliniques. Leur apparition est toujours imprévisible

et leur évolution variable. On admet que pour un animal donné, après un premier stade d'infection brucellique aiguë accompagnée d'un ou des signes cliniques classiques, la maladie tend généralement à la chronicité, le taux d'agglutinines sériques diminue lentement puis disparaît. Dans le cas où un hygroma apparaît, cette lésion souvent parfaitement close par un tissu inflammatoire organisé tend parfois à l'auto-stérilisation ; d'autres fois, les anticorps formés sur place

ne peuvent diffuser dans la circulation générale. Ces faits expliquent la présence en zone reconvenue infectée d'un certain pourcentage d'animaux ayant avorté ou présentant des hygromas brucelliques, et dont le sérum est négatif.

Il convient de noter aussi la possibilité non négligeable des avortements dus à d'autres maladies fréquentes : peste, trypanosomiase, qui peuvent interférer avec la brucellose, à l'occasion d'une malnutrition saisonnière par exemple. Mentionnons, pour mémoire, la possibilité des hygromas traumatiques.

Un fait intéressant ressort des résultats sérologiques : 65 p. 100 des femelles à séro-agglutination positive semblent cliniquement indemnes. Le nombre des brucelliques présentant des manifestations cliniques de maladie est environ deux fois moindre que celui des animaux reconnus infectés. Cette constatation rejoint celle de BURNET qui disait « qu'en matière de brucellose, il y a généralement beaucoup plus d'infectés que de malades ». PERREAU (1956) au Tchad, aboutit à la même conclusion (43).

#### — Essai d'estimation du pourcentage d'infection brucellique des troupeaux de Moyenne-Casamance.

Ce travail porte sur 30 troupeaux d'un effectif total de 2.400 têtes ; 812 prélèvements ont été effectués sur toutes les femelles adultes uniquement. Les 765 sérums soumis à la séro-agglutination donnent les résultats suivants :

70 séro-agglutinations positives } = 9,4 p. 100  
 2 séro-agglutinations suspectes }  
 693 séro-agglutinations négatives } = 90,6 p. 100

Sur ces 30 troupeaux testés :

— 17 sont estimés infectés (un ou plusieurs animaux réagissants) = 60 p. 100 ;

— 1 est suspect d'infection ;

— 12 sont estimés indemnes d'infection = 40 p. 100.

Il faut noter également l'intérêt du dépistage des infectés chroniques par la séro-agglutination. Sur les 17 troupeaux reconnus infectés :

— 11 présentent des animaux atteints de brucellose clinique :

avortement ..... 2 troupeaux

hygroma ..... 4 troupeaux

avortement et hygroma ..... 5 troupeaux

— 6 semblent cliniquement indemnes et l'infec-

tion latente de ces troupeaux serait passée inaperçue sans les contrôles sérologiques. Précisons que dans ces six troupeaux, le nombre des réagissants n'est pas toujours négligeable par rapport au nombre total des femelles soumises au test. Pour chaque troupeau, le nombre des réagissants est respectivement de : 1 sur 43, 2 sur 59, 1 sur 26, 2 sur 27, 1 sur 9 et 7 sur 30 (soit 23 p. 100 de femelles à infection latente pour ce dernier troupeau).

Le taux d'infection des 17 troupeaux reconnus infectés, c'est-à-dire le pourcentage exprimant le nombre de femelles réagissantes par rapport au nombre de femelles testées dans le troupeau, se répartit comme suit : (Tab. V).

TABLEAU N° V

Pourcentage d'infection	0 à 5	6 à 20	21 à 50	Plus de 50
Nombre de troupeaux	8	3	4	2

Les deux troupeaux les plus infectés le sont respectivement à 61 et 70,5 p. 100. Il nous paraît intéressant de donner certaines précisions à leur sujet, qui montrent mieux l'allure sévère que peut prendre la maladie dans cette région.

— Troupeau de B... S... à Sare Niakougane : 51 têtes au total ; 18 prélèvements effectués : 11 sont positifs, soit 61 p. 100, 5 vaches présentent des signes cliniques de maladie :

vache 1 : 1 avortement en 1962 ; 1 hygroma double au genou de chacun des antérieurs.

vache 2 : 2 avortements successifs, le dernier en 1962.

vache 3 : 1 mise bas normale, puis 1 avortement en 1962 ; 1 hygroma à un genou et 1 à un grasset.

vache 4 : 1 avortement récent vers le 8<sup>e</sup> mois.

vache 5 : 4 avortements successifs après un premier vêlage normal.

— Troupeau de D... S... à Nemaounda : 68 têtes au total ; 17 prélèvements effectués ; 12 sont positifs, soit 70,5 p. 100 : 5 vaches pré-

sentant des signes cliniques de brucellose ont un séro-diagnostic positif.

vache 1 : 1 hygroma au genou.

vache 2 : 1 hygroma au genou.

vache 3 : 1 veau mort-né quelques jours avant.

vache 4 : 3 avortements successifs puis un veau normal.

vache 5 : animal complètement « défiguré » par 6 hygromas simples ou doubles aux quatre membres, à la hanche et au grasset.

(Dans ce dernier troupeau de 68 têtes, le cinquième de l'effectif présente un ou plusieurs hygromas.)

#### — Rapports entre les résultats bactériologiques et sérologiques.

L'isolement d'une *Brucella* à partir du liquide d'hygroma a été tenté à plusieurs reprises, en même temps qu'un examen sérologique était pratiqué. Les résultats relatifs à 17 prélèvements sont donnés dans le tableau VI.

TABLEAU N° VI

Vache	Sérum	Liquide d'hygroma			Symptômes cliniques	
	séro-agglutination	Nombre analyses	séro-agglutination	Isolement bactériologique	HY*	AV*
1	+ 1/160	1	+ 1/320	souillé	double HY	7 veaux normaux
2	Hémolyse	1	négatif	souillé	1 HY	3 veaux normaux
3	Hémolyse	1	négatif	souillé	2 HY	1 AV puis 2 veaux normaux
4	+ 1/320	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY double	3 AV sur 4 vêlages
5	+ 1/160	1	+ 1/40	souillé	1 HY	1 AV 3 mois avant au premier vêlage
6	+ 1/40	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY double	1 AV sur 2 vêlages
7	Hémolyse	1	+ 1/320	souillé	1 HY double	2 veaux normaux
8	Hémolyse	2	2 négatifs	souillé	2 HY	
9	+ 1/320	1	+ 1/320	isolement <i>Brucella</i> sp.	génisse 3 ans	1 HY
10	+ 1/20	1	+ 1/320	souillé	1 HY	1 AV au 3 <sup>e</sup> vêlage 15 jours avant avec une rétention du délivre
11	+ 1/320	1	négatif	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY	
12	+ 1/80	1	+ 1/80	souillé	1 HY	1 veau normal
13	+ 1/40	1	+ 1/80	inutilisable en raison condition de transport	2 HY	
14	+ 1/320	1	souillé	- idem -	2 HY	
15	+ 1/20	1	+ 1/20	isolement <i>Brucella</i> sp.	1 HY	2 veaux normaux
16	+ 1/60	1	+ 1/20	souillé	1 HY	3 veaux normaux
17	suspect	1	+ 1/60	souillé	1 HY	4 veaux normaux

\*HY = hygroma

\*AV = avortement

Plusieurs prélèvements, effectués avec toutes les précautions de stérilité requises, sont souillés. Cela tient au fait que de nombreux éleveurs, peu désireux de voir leurs animaux dévalués par de volumineuses lésions cutanées inesthétiques et gênantes, ponctionnent les hygromas avec leur couteau, sans aucune précaution d'asepsie. Nous avons plusieurs fois été témoins de cette pratique. L'hygroma est alors rapidement le siège d'une prolifération de germes secondaires. La *Brucella* originelle, lente à pousser, reste masquée en culture d'isolement par le germe de souillure qui envahit la gélose.

— **Rapports entre les anticorps sériques et ceux des hygromas reconnus bactériologiquement infectés.**

Ces rapports, exprimés en taux d'agglutination, sont les suivants : (Tab. VII).

TABLEAU N° VII

Séro-agglutination	sang	Liquide d'hygroma
vache n° 4	1/320	1/320
vache n° 6	1/40	1/320
vache n° 9	1/320	1/320
vache n° 11	1/320	négatif
vache n° 15	1/20	1/20

A une exception près, tous les animaux chez lesquels est isolée une *Brucella* à partir d'un hygroma présentent une agglutination positive avec le sérum et le liquide de ponction de l'hygroma. On peut penser, *a priori*, que pour les animaux 1, 5, 10, 12, 13, 16 et 17 qui présentent également cette double agglutination, l'origine brucellique de l'hygroma est plus que probable, les germes de souillure masquant le germe causal. Beaucoup d'hygromas doivent héberger des cultures pures de *Brucella* avant toute intervention. THIENPONT et Coll. isolent en 1958, au Congo-belge, le germe spécifique dans 60 p. 100 de ces lésions et en 1961, confirment que le *bakkalé* est bien une lésion chronique de brucellose (60).

Il existe souvent une discordance entre le taux des agglutinines sériques et celui des agglutinines de l'hygroma. Elle tient sans doute à la phase de la maladie, à la perméabilité circulatoire de ses

parois et aussi à la relative imprécision de la technique de l'agglutination (par rapport à la technique de fixation du complément, par exemple).

Ces discordances entre les résultats bactériologiques et sérologiques avaient déjà frappé certains auteurs. Elles montrent que pour un diagnostic précis de brucellose, l'isolement du germe et la recherche des anticorps sériques ou lésionnels, pratiqués conjointement, peuvent aider utilement à l'étude de l'infection lors d'une enquête épidémiologique.

#### IV. — SYMPTOMATOLOGIE PARTICULIÈRE DE L'INFECTION BRUCELLIQUE AU SÉNÉGAL

Le tableau symptomatologique est trop classique pour être rappelé. Cependant, il convient de souligner qu'au Sénégal et certainement dans d'autres Etats de l'Ouest africain, la maladie ne revêt pas l'aspect épizootique qu'elle revêt en Europe. Elle est essentiellement caractérisée par l'apparition plus fréquente de lésions chroniques en des points très variés du corps : bursites, arthrites, abcès sous-cutanés, groupés sous le nom général d'hygroma ; elles sont d'origine brucellique et hébergent la *Brucella*. Nous avons rencontré ces lésions en Moyenne-Casamance chez 4 p. 100 des femelles examinées (34 sur 835). La localisation, la taille, la consistance en est variable. Après ponction, elles redevennent souvent volumineuses.

L'avortement est le deuxième signe dominant, cependant relativement moins fréquent (25 sur 835, soit 3 p. 100). La symptomatologie est classique et peut revêtir plusieurs formes : soit avortements répétés après un ou plusieurs vélages normaux, soit avortements en série puis auto-stérilisation et vélages normaux par la suite, soit enfin avortement isolé se produisant le plus souvent dans la deuxième partie de la gestation.

Les autres lésions, mammaires par exemple, sont discrètes, peu fréquentes. Elles attirent peu l'attention des éleveurs.

D'une façon générale, l'aspect clinique de la maladie reste très imprécis. Les éleveurs ne font jamais le rapprochement entre les deux symptômes dominants qui évoluent souvent de façon

peu prévisible et indépendamment l'un de l'autre. L'avortement reste souvent isolé.

L'élevage en liberté, en plein air, contribue peut-être dans une large part à cette atténuation apparente du rôle pathogène de l'agent causal, grâce à une dissémination plus large du contagion subissant l'action défavorable du soleil, de la lumière, etc...

## V. — DÉTERMINATION DES SOUCHES DE BRUCELLA ISOLÉES EN CASAMANCE (Régions de KOLDA et VÉLINGARA)

Cette détermination a été effectuée en suivant les méthodes des Comités Mixtes F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose 1953 (16) et 1958 (61). Les principales techniques de détermination ont été mises en œuvre ; inhibition par les colorants, production de  $\text{SH}_2$ , activité uréasique, propriétés sérologiques des souches.

### A. Les souches à étudier

Elles ont été isolées en brousse, par ensemencement direct des milieux de cultures avec le liquide ponctionné d'hygroma d'animaux suspects de brucellose. Pour des raisons d'ordre pratique, il a été impossible de faire les doubles cultures en atmosphère ordinaire et en atmosphère contenant du  $\text{CO}_2$ . Toutes les primocultures et le premier isolement ont été pratiqués systématiquement en atmosphère contenant du  $\text{CO}_2$ . Les cultures suivantes ont été faites en double, pour juger d'un éventuel besoin en  $\text{CO}_2$ , à ce stade de culture. Pour les mêmes raisons matérielles, il a été impossible d'effectuer les primocultures en étuve à 37°. Mais la température ambiante, élevée pendant la période de cette expérimentation, a permis le développement satisfaisant des cultures.

### B. Milieux de culture

Pour l'isolement des souches : Bacto-Tryptose Agar (Difco), gélose Albimi et bouillon Bacto-Tryptose Broth.

Pour les divers tests : milieu glucose-lactose  $\text{SH}_2$  de Hajna (Institut Pasteur), pour différenciation rapide des *Brucella* et des *Proteus* ;

— milieu synthétique à l'urée de Ferguson (Institut Pasteur) pour recherche de l'activité uréasique.

### C. Colonies en phase « smooth »

De nombreux auteurs et en particulier HUD-  
DLESON ont montré l'absolue nécessité de travailler avec des souches rigoureusement *smooth* lors des essais d'identification d'espèce. Diverses méthodes ont été préconisées pour vérifier l'état *smooth* d'une culture : par chauffage, avec l'acriflavine.

Seule, la méthode de HENRY (24) a été employée pour le présent travail. Tous les essais ont donc été pratiqués avec des souches en phase *smooth*, contrôlée à la loupe binoculaire en lumière oblique.

### D. Age des cultures

Les travaux d'identification d'espèce des souches étudiées n'ont pu être menés sur les souches dès leur isolement ce qui eut donné les meilleurs résultats d'après HUDDLESON (3) et RENOUX (49) ; mais les souches ont subi un nombre minimum de passages. Dès leur isolement en culture pure, elles ont été lyophilisées puis conservées pendant 2 mois à  $-20^\circ\text{C}$ , remises en culture et identifiées. Elles ont subi au cours de ces opérations, un maximum de cinq à sept repiquages (exception faite pour la souche 20 qui n'en a subi que trois).

### E. Résultats

#### 1° Caractères de HUDDLESON (26).

Ils révèlent le besoin de  $\text{CO}_2$ , le pouvoir d'inhibition de certains colorants, et la production de  $\text{SH}_2$ . Ils permettent de différencier les diverses espèces de *Brucella* uniquement par des réactions quantitatives et non qualitatives. Il en est d'ailleurs de même pour les caractères d'identification autres que ceux de Huddleson. Leur valeur sera discutée. Les résultats obtenus ont été les suivants :

##### a) Besoin en $\text{CO}_2$ .

Il n'a pu être apprécié lors du premier isolement, pour des raisons pratiques déjà précisées ;

toutes les primo-cultures ou le premier repiquage ont été pratiqués en atmosphère de CO<sub>2</sub> (cloche à dessiccation et méthode dite « de la bougie »).

Mais il a été systématiquement recherché dès le deuxième ou troisième repiquage, au Laboratoire : aucune des souches isolées ne manifeste un besoin en CO<sub>2</sub>. Pour deux souches, un faible ralentissement de la culture est noté tout au plus, par comparaison avec les cultures parallèles en atmosphère ordinaire.

#### b) Inhibition par des colorants \*.

Seules la thionine et la fuschine sont utilisées. Les souches sont cultivées sur gélose Tryptose Agar en boîtes de Pétri avec des dilutions des deux colorants de 1/25.000, 1/50.000, 1/75.000 et 1/100.000 calculées en poids de colorant pur. Des souches de référence : *B. abortus* 544 Weybridge et *B. melitensis* M 16 Beltsville et deux souches fournies par le Professeur Roux, de Montpellier : *B. abortus* B 55 et *B. melitensis* M 15, sont cultivées en même temps que les souches inconnues avec chacune des dilutions de colorant. Des cultures de 48 h sont récoltées sur gélose sans colorant. Une anse de platine de culture est mise en suspension dans 0,1 ml d'eau salée à 0,85 p. 100. Une anse de cette solution est ensemencée en boîte de Pétri, en stries parallèles, sans recharger l'anse de platine, selon la méthode des cadrans permettant l'étude comparative de plusieurs souches sur une même boîte de Pétri. Dans chaque boîte de Pétri correspondant à une des quatre dilutions d'un colorant donné, deux souches inconnues sont éprouvées conjointement avec les deux souches internationales 544 et M 16.

Les résultats sont les suivants :

#### 1) FUSCHINE.

Toutes les souches inconnues ou de référence, ont poussé en présence de ce colorant à toutes

(\*) Nous remercions vivement le Professeur Roux, de la Faculté de Médecine de Montpellier, le Docteur Cortes et M. Quatrefages, du Laboratoire vétérinaire départemental de l'Hérault à Montpellier, qui ont bien voulu nous expédier des souches de référence de leurs laboratoires, et les docteurs Abdussalam et Bijlenga de l'O. M. S. qui ont bien voulu procurer la Fuschine et la Thionine nécessaires à nos identifications.

les dilutions, dans chacune des séries \*. Les souches inconnues peuvent donc être des *B. abortus* ou des *B. melitensis*.

#### 2) THIONINE.

##### Souches de référence :

— *B. abortus* 544 : inhibition à toutes les concentrations dans les trois séries pratiquées (comportement classique et forte sensibilité à la thionine).

— *B. melitensis* M 16 : dans une série, inhibition au 1/25.000 (forte concentration) et culture aux trois autres concentrations.

Dans deux autres séries, culture à toutes les concentrations (comportement classique et bonne sensibilité à la thionine).

— *B. abortus* B 55 : dans une série unique, inhibition au 1/25.000 et 1/50.000 et culture au 1/75.000 et 1/100.000 (souche moins sensible que 544 vis-à-vis de ce colorant).

— *B. melitensis* M 15 : culture positive à toutes concentrations, dans une série unique (comportement classique et bonne sensibilité à la thionine).

Les souches de référence ont donc un comportement normal et peuvent servir de comparaison dans la gamme des dilutions utilisées.

##### Souches inconnues (une série de dilutions par souche) :

— B 7 : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— B 10 : cultures positives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *melitensis*.

— B 13 : cultures négatives au 1/25.000, 1/50.000 et 1/75.000 et positives au 1/100.000 (très faiblement) ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— B 15 : culture faiblement positive au 1/100.000 (faible concentration en colorant) et très faiblement positive aux autres dilutions (forte concentration en colorant), le germe ne poussant alors que sur la première strie d'ensemencement, la plus concentrée en germes. L'inhibition de la culture par le colorant est

(\*) Une série est représentée par l'ensemble des quatre dilutions d'un colorant donné.

nette par rapport aux cultures sur milieu sans colorant.

Le comportement de cette souche est difficile à apprécier et sera discuté plus loin.

— *B. 20* : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

— *B. Casamance 380/63* : cultures négatives à toutes les dilutions ; comportement d'une *Brucella* type *abortus*.

### c) Production de SH<sub>2</sub>.

Elle est recherchée avec du papier au sous-acétate de plomb sur des cultures sur gélose Tryptose-Agar en tubes à essais. Les tubes sont examinés quotidiennement et les papiers à test positif sont renouvelés chaque jour.

Toutes les souches sont caractérisées par une production abondante de SH<sub>2</sub>, déjà décelable après 24 h de culture, maximale les deuxième et troisième jour, encore nette le cinquième jour, visible seulement à l'état de trace le septième jour.

## 2<sup>o</sup> Autres caractères de diagnostic.

Certains n'ont pas été recherchés tels l'action du bleu de méthylène, du vert janus et de l'Erythromycine (53), l'action du Diethylthiocarbamate de soude (DEDTC) (50), la culture sur milieu de Petraghani (32).

### a) Activité uréasique.

Aux techniques de BAUER (3), de PACHECO et de MELLO (40) nous avons préféré la technique plus simple de RENOUX et QUATREFAGES (47).

Toutes les souches éprouvées par cette dernière méthode montrent une activité uréasique intense appréciable entre 6 et 9 minutes. Or, RENOUX et QUATREFAGES indiquent un virage en 2 à 5 minutes pour *B. melitensis* et 12 à 22 minutes pour *B. abortus*. Elles ont donc un comportement intermédiaire par rapport à celui de souches typiques *B. abortus* et *B. melitensis*.

### b) Epreuve sérologique.

Elle utilise des sérums mono-spécifiques obtenus

par la méthode des absorptions quantitatives de WILSON et MILES (51)\*.

Les souches à étudier en phase *smooth* sont mises en suspension d'environ 6 milliards de germes par ml (tube 4 de l'échelle d'opacité de BROWN) pour servir d'antigène dans une épreuve classique d'agglutination en tube (0,5 ml dans chaque tube de dilution). Les sérums mono-spécifiques nous ont été aimablement fournis par le Laboratoire de Weybridge, par l'entremise du Service de la Santé Publique Vétérinaire de l'O. M. S. Le sérum mono-spécifique est dilué au 1/20, 1/40, 1/80, 1/160. La technique suivie est celle de Montpellier (17). Les résultats des épreuves d'agglutinations lentes en tubes sont les suivants :

#### Souches de référence.

— *B. abortus* 544.

— Agglutination 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

— Agglutination négative avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

— *B. melitensis* M 16.

— Agglutination 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

— Agglutination négative avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

Le comportement des souches de référence est donc classique avec les sérums mono-spécifiques parfaitement saturés utilisés.

#### Souches inconnues.

Les six souches *B. 7*, *B. 10*, *B. 13*, *B. 15*, *B. 20* et *Casamance 380/63* :

— Agglutinent à 100 p. 100 avec les quatre dilutions du sérum mono-spécifique anti-*abortus*.

— N'agglutinent avec aucune des dilutions du sérum mono-spécifique anti-*melitensis*.

Toutes les souches inconnues ont donc les

(\*) Nous remercions vivement le Docteur Abdussalam de l'O. S. M. et le Docteur Brindley-Morgan, de Weybridge, qui ont bien voulu nous fournir les sérums mono-spécifiques de référence dont nous avons besoin.

caractères sérologiques de *Brucella* type *abortus*.

En résumé, les souches étudiées présentent les caractères suivants :

— Aucune n'a besoin de CO<sub>2</sub> pour cultiver à partir de la deuxième ou troisième sub-culture (les primo-cultures étant faites en atmosphère de CO<sub>2</sub>).

— B 7, B 13, B 20, B Casamance 380/63 poussent en fuschine, alors que la thionine inhibe leurs cultures.

— B 10 n'est inhibée ni par la thionine ni par la fuschine.

— B 15 cultive en fuschine, mais est inhibée de façon nette mais incomplète par la thionine.

— Toutes les souches produisent du SH<sub>2</sub> en quantités importantes pendant au moins 6 jours.

— Toutes les souches ont une activité uréasique importante, intermédiaire entre celle des *B. abortus* et des *B. melitensis* classiques.

— Toutes les souches ont les caractères sérologiques de *B. abortus*.

## F. Discussion

Après avoir donné ces résultats, nous voudrions préciser la valeur qu'il faut actuellement leur accorder. La classification des *Brucella*, basée sur les caractères de HUDDLESON, est une des rares classifications d'espèces bactériennes basée sur des caractères quantitatifs. Or, de très nombreux travaux et observations montrent que ces caractères d'espèce ont une stabilité très relative. Les propriétés des souches peuvent varier selon leur âge, le nombre des repiquages, les milieux sur lesquels elles sont repiquées, la phase dans laquelle elles ont été étudiées, etc... Par des procédés de laboratoire, on peut arriver à modifier *in vitro* leurs caractères biochimiques et sérologiques, ceux-là mêmes qui servent de base à la classification ; les nouvelles propriétés restent acquises (27). WILSON et EVANS (66) décrivent une souche de *B. abortus* qui se transforme graduellement *in vivo* en *B. melitensis* par passages en série sur animaux sensibles. Des transformations similaires sont signalées également avec *B. melitensis* et *B. suis* (48) (65). JACOTOT et VALLÉE (28) attirent l'attention sur la plasticité de certaines souches pouvant donner des résultats différents lors des essais d'identi-

fication par différents chercheurs également qualifiés et avertis des difficultés d'un tel travail.

En conclusion de nombreuses recherches, RENOUX (52) (54) dénonce tout l'arbitraire de l'actuelle classification des *Brucella* en espèces typiques et atypiques et souligne la difficulté de mener à bien et d'interpréter les tests d'identification. A la classification de Mc CULLOUGH et BEAL (33) qui ne reconnaissent que 3 espèces et des souches atypiques ou aberrantes, il oppose une espèce unique, *B. melitensis*, avec de nombreuses variétés : *melitensis*, *abortus*, *suis*, *thomseni*, *lisbonnei*, *intermedia*, *ovis*, etc...

Les quelques souches étudiées ici ne possèdent pas tous les caractères des souches classiques de référence de chaque espèce. Leur besoin en CO<sub>2</sub> s'il existe serait limité au seul isolement ou à la première sub-culture, pour des souches qui offrent par ailleurs les caractères de l'espèce *B. abortus* : B 7, B 13, B 15, B 20, B 380/63. Il est vrai que la plupart des souches typiquement *B. abortus* à l'isolement perdent très vite ce besoin en CO<sub>2</sub>.

La souche B 10 se comporte comme une *B. melitensis* avec les colorants. Elle tire pourtant son origine du même troupeau que B 7 et B 13. Le troupeau hébergerait-il des souches de plusieurs types ou variétés ? S'agit-il d'une transformation naturelle *in vivo*, ou artificielle due aux manipulations pendant les opérations d'identification ?

Malgré ses difficultés et ses imperfections, la caractérisation précise des souches isolées reste pourtant indispensable pour les recherches épidémiologiques sur la brucellose, pour l'interprétation des données cliniques, pour une meilleure connaissance générale de la maladie. L'étude de nombreuses souches d'origine bovine, l'isolement de souches caprines et ovines, permettront seuls de caractériser les souches du Sénégal.

En conclusion, sur six souches isolées de lésions chroniques chez des bovins de Casamance, cinq nous semblent appartenir à l'espèce *Brucella melitensis*, var. *abortus* (classification de RENOUX) et sont caractérisées par une production intense de SH<sub>2</sub> ; une souche semble posséder les caractères de *Brucella melitensis* var. *intermedia*. Cette dernière variété a déjà été isolée une fois au Sénégal, chez un enfant avec une origine caprine probable (2).

## VI. — MOYENS DE LUTTE CONTRE LA BRUCELLOSE APPLICABLES AU SÉNÉGAL

Cette enquête, bien que fragmentaire, permet tout de même de se faire une idée de la gravité très variable de cette affection au Sénégal.

Pour en reprendre les chiffres principaux, on constate que pour l'ensemble du Sénégal, 13,3 p. 100 des animaux sont infectés, et 8,5 p. 100 font une maladie clinique.

Dans la seule Casamance, 13,4 p. 100 des animaux sont infectés, 7,4 p. 100 font une maladie clinique avec avortement ou hygroma brucellique; sur 30 troupeaux entièrement testés, 60 p. 100 sont plus ou moins infectés. Dans la région du Ferlo, aucun réagissant n'a été trouvé, cette région semble indemne. Nous n'avons pu avoir aucune donnée sur le Sénégal Oriental.

Les chiffres trouvés au Sénégal sont à rapprocher de ceux d'enquêtes menées dans d'autres territoires. TENDEIRO et GOMES (59) à Bissao en 1952 trouvent 15,9 p. 100 de séro-réagissants pour 107 examens pratiqués. A Fort-Lamy, SACQUET (56) en 1955 trouve de 8,5 à 18,5 p. 100 (12 p. 100 en moyenne pour 500 examens) et PERREAU (43) en 1956, de 7,4 à 41 p. 100 (12 p. 100 en moyenne), sur 1933 sérums. Au Rwanda-Burundi en 1961, THIENPONT et Coll. (60) décèlent de 1 à 20 p. 100 de séro-réagissants. Dans une enquête sur 1.351 bovins, 5,7 p. 100 sont trouvés porteurs d'hygromas, 8 p. 100 des vaches ont avorté. Le taux des avortements s'élève à 32 p. 100 chez les vaches ayant des hygromas. MAHLAU et HAMMOND (34) au Tanganyika en 1962, trouvent 15 p. 100 de sérums positifs sur des animaux abattus pour la boucherie. DAFALLA (14) enfin, au Soudan en 1962, trouve 15 p. 100 de réagissant sur 9.000 bovins testés.

Ces chiffres montrent que la maladie, si elle semble assez répandue en certaines régions du Sénégal, reste cliniquement peu importante comparée aux grandes épizooties telles que la peste, la péripneumonie ou la trypanosomiose. Les avortements restent rares. Mais si son incidence générale semble faible sur l'économie du pays, certaines régions ou certains troupeaux au sein de celles-ci paient un lourd tribut.

Avant tout, la brucellose est une anthroponose. L'incidence de la maladie humaine

contractée par contamination animale est vraisemblablement assez faible, mais la brucellose humaine reste une maladie grave, entraînant des séquelles importantes. Aucune enquête n'a encore été pratiquée chez les populations des pays infectés.

Maladie humaine d'origine animale, la brucellose ne peut être combattue qu'en assainissant le bétail. Compte tenu de l'épidémiologie de cette affection, quels sont les moyens pouvant être valablement mis en œuvre au Sénégal dans les régions les plus atteintes? Disons tout de suite qu'il semble illusoire de vouloir appliquer les méthodes d'éradication employées dans les pays d'Europe ou d'Amérique. Rappelons brièvement que ces méthodes sont basées sur plusieurs principes :

— l'éradication de la maladie doit être le but, même lointain, de toute campagne de prophylaxie de la brucellose. Toutes les mesures visant simplement à contenir la maladie deviennent rapidement sans effet.

— la prophylaxie sanitaire doit être la base des mesures d'éradication; la prophylaxie médicale n'est qu'un appoint, si possible temporaire, dans la lutte menant à l'éradication.

La prophylaxie sanitaire repose essentiellement sur le dépistage des contaminés, cliniquement atteints ou non, l'élimination immédiate des malades à forme « ouverte » de maladie (avortement), l'élimination progressive des autres infectés.

— la prophylaxie médicale consiste à protéger les jeunes animaux du milieu contaminé par une vaccination utilisant un vaccin inoffensif, efficace, ne gênant pas la prophylaxie sanitaire, et d'emploi facile (6).

En dernier lieu, le plan de lutte adopté doit tenir compte essentiellement des impératifs économiques en jeu. Le coût de la prophylaxie doit demeurer inférieur au montant des pertes occasionnées par la maladie.

Il est certain que chaque pays doit tenir compte des conditions locales. De très nombreux plans ont été proposés (45) qui ont été analysés par divers auteurs et, en particulier, par les professeurs VUILLAUME (63) et JOUBERT et Coll. (29). La réalisation de tels projets demande d'énormes moyens financiers, un personnel très qualifié et nombreux, des laboratoires spécia-

lisés dans la production d'antigène en grandes quantités, l'analyse de milliers de prélèvements de sérum, de lait, une infrastructure administrative de contrôle très importante...

Ces vastes campagnes d'éradication de la brucellose sont difficilement applicables au Sénégal. En effet, la lutte contre cette affection passe bien après la lutte contre les grandes épizooties africaines ; elle se heurtera aux conditions actuelles de l'élevage, conduit de façon extensive par des éleveurs encore peu avertis des problèmes de rentabilité et de la prophylaxie d'affections dont la symptomatologie et l'importance économique leur échappent encore.

La base de toute campagne d'éradication en milieu infecté reste l'élimination des animaux infectés. Cette pratique est ordinairement très mal comprise et acceptée par les éleveurs en pays d'élevage traditionnel extensif ; ils refuseront probablement de s'y soumettre. On est donc en droit de douter à l'avance de l'efficacité d'une campagne de lutte basée sur la seule prémunition au vaccin B 19.

### Mesures proposées pour la lutte contre la brucellose au Sénégal

#### 1° Mesures de prophylaxie médicale à mettre en œuvre.

Compte tenu de la réserve importante formulée ci-dessus elles pourraient reposer sur l'emploi du vaccin B 19, dont les qualités et les défauts sont bien connus (21) (22) et (62). Cette souche est très stable. Elle confère une bonne immunité. Cependant, la production d'anticorps agglutinants peut gêner une campagne de dépistage des infectés basés sur le séro-diagnostic.

Selon les experts des Comités Mixtes F. A. O./O. M. S. sur la brucellose, la vaccination des jeunes de 6 à 8 mois protège à 97 p. 100 contre les avortements et à 80 p. 100 contre les infections. Une seule vaccination protège l'animal durant toute sa vie économique (15). Il est vrai qu'il s'agit de normes valables pour l'Europe. Sans être d'une efficacité absolue, le B 19 offre donc de bonnes garanties quant à son pouvoir immunisant.

Actuellement, au Sénégal, l'emploi du B 19 tendrait à faire régresser la maladie dans les troupeaux les plus atteints, par la vaccination systématique de tous les veaux entre 8 mois et 1 an et,

éventuellement, des femelles en début de gestation. Ces vaccinations auraient l'avantage principal de constituer ce « matelas » d'animaux vaccinés (80 p. 100 au moins) dont parlent JOUBERT et Coll. (29). Elles permettraient de diminuer efficacement la « surpollution bactérienne » sévissant dans les exploitations les plus atteintes en évitant l'avortement. L'infection persistera, certes, mais elle sera moins sévère, et les pertes économiques dues à l'avortement diminueront assez rapidement. L'apparition d'agglutinines vaccinales n'est pas gênante, en l'absence de tout programme de prophylaxie sanitaire utilisant la séro-agglutination pour le dépistage des infectés.

La fabrication du B 19 est bien codifiée, (61). La production de ce vaccin en culture dense et continue, en milieu liquide, offre des avantages tant par le nombre très élevé de germes au cm<sup>3</sup> que par l'absence de changements de type et de dissociation (23) (25) et (44). « La nécessité de présenter ce vaccin sous une forme lyophilisée augmente le prix de sa fabrication d'une façon sensible. L'emploi du glutamate de sodium doit permettre de réduire la baisse de titre importante qui accompagne la lyophilisation. Néanmoins un tel vaccin, d'un prix assez élevé, ne devrait être utilisé que dans des conditions bien définies d'efficacité et de contrôle vétérinaire si l'on ne veut pas courir au devant d'un échec. Là encore, il importe d'envisager le coût de ces opérations de contrôle. »

#### 2° La prophylaxie sanitaire

Elle reste la pierre d'achoppement de toute action efficace. Malgré les difficultés inhérentes au mode d'élevage, il convient de l'envisager sérieusement grâce à l'éducation préalable des éleveurs qui est à confier aux agents du service de l'Elevage et, sous leur contrôle, aux animateurs ruraux. Elle aura pour but une meilleure connaissance de la maladie, de ses dangers pour l'animal et l'homme, et l'acquisition des notions permettant de lutter contre elle. On insistera particulièrement sur le rôle fondamental de l'avortement brucellique, qui libère de nombreux bacilles virulents favorisant la contamination. Il conviendrait de persuader l'éleveur de se débarrasser le plus rapidement possible des vaches qui avortent et des animaux présent-

tant un ou plusieurs hygromas, d'origine brucellique le plus souvent.

Certaines règles élémentaires d'hygiène générale seront à diffuser. On rappellera les dangers de contamination humaine du fait des laits et fromages frais infectés et le rôle capital, chez l'homme, de l'infection par contact.

Ce n'est que lorsque le principe de la prophylaxie sanitaire sera compris et accepté (c'est-à-dire dans un premier temps l'élimination réelle et volontaire des malades cliniquement atteints) qu'une action médicale pourra être entreprise avec quelques chances de succès, dans un certain nombre de troupeaux témoins, avec des éleveurs de bonne volonté. Tout autre procédure semble vouée rapidement à l'échec.

On connaît l'ubiquité de l'espèce *Brucella*, la fréquence et la gravité de la brucellose humaine dans les régions où le bétail est infecté. A la lumière des résultats de cette enquête, on peut considérer que la maladie animale est très répandue au Sénégal et constitue un réel danger pour les populations d'éleveurs. Une exacte connaissance de sa répartition et de son extension, doit donc aider les médecins du Service de Santé à rechercher cette maladie souvent difficile à diagnostiquer en milieu tropical (2). Une enquête épidémiologique menée parmi les populations des zones les plus infectées permettrait de mieux apprécier la morbidité de la maladie humaine, grâce à un test allergique simple à mettre en œuvre.

## VII. — CONCLUSION

La brucellose, maladie animale transmissible à l'homme, existe dans de nombreux pays africains. Une enquête conduite en utilisant la méthode du *ring-test* a montré que dans plusieurs régions d'élevage du Sénégal, cette affection sévit de façon non négligeable. Dans les régions les plus atteintes, une enquête sérologique a permis d'en préciser les données épidémiologiques. Sur 1.051 séro-agglutinations pratiquées dans 63 troupeaux, 140 sont positives (13,3 p. 100) à un taux parfois élevé ; 61 p. 100 des troupeaux sont infectés. Dans la Haute-Casamance le taux d'infection des troupeaux a été recherché en soumettant toutes les femelles adultes de 30 troupeaux au séro-diagnostic : 9,4 p. 100 des femelles ont un sérum positif et 60 p. 100 des

troupeaux sont infectés. Leur taux d'infection varie de 1 à 70,5 p. 100 ; le 1/3 est infecté à plus de 20 p. 100. Des signes cliniques de brucellose sont observés sur 34,8 p. 100 des femelles à sérum positif, contre 1,5 p. 100 seulement des femelles à sérum négatif.

L'isolement de 6 souches de *Brucella* à partir de liquide de ponction d'hygroma confirme le diagnostic clinique. Cinq souches ont des caractères de *B. abortus* et une, ceux de *B. intermedia*.

La symptomatologie de l'affection, non rencontrée sous sa forme épizootique, est classique ; 4 p. 100 des femelles observées présentent des hygromas et 3 p. 100 avortent une ou plusieurs fois. Il y a deux fois plus d'animaux infectés (sérum positif, absence de signes cliniques) que d'animaux malades (sérum positif avec des signes cliniques).

Les moyens à mettre en œuvre au Sénégal pour lutter contre la brucellose sont étudiés. Dans une première étape, c'est essentiellement la vaccination des jeunes au vaccin B 19 qui est préconisée pour faire régresser les avortements, ainsi qu'une campagne d'information des éleveurs, pour les aider à mieux connaître la maladie et ses dangers pour l'animal aussi bien que pour l'homme.

## REMERCIEMENTS

Qu'il nous soit permis de remercier ici toutes les personnes qui nous ont aidé à mener à bien cette étude, et en particulier le Docteur J. ORUE, Directeur du Laboratoire de Recherches Vétérinaires de Dakar-Hann, qui a commencé l'enquête sur les laits en 1960, le Docteur SAR SAMBA COR, Directeur du Service de l'Élevage et des Industries Animales du Sénégal, le Docteur DELPECH, Inspecteur Régional de Thiès, les assistants vétérinaires TOURE et N'DIAYE à Kolda, FALL à Vélingara et M. THIOUNE, Aide de Laboratoire à Hann.

*Institut d'Élevage et de Médecine Vétérinaire  
des Pays tropicaux*

*Laboratoire national de recherches vétérinaires  
de Dakar-Hann*

*Service de microbiologie*

## SUMMARY

## Brucellosis in Cattle in the Senegal

An investigation on brucellosis among cattle in the Senegal has just been completed.

The examination of the milk by the ring test method shows that this disease is widely distributed throughout the country.

The serologic test (slow sero-agglutination in tubes) enabled one to ascertain that 13,3 out of 100 sera tested were positive, whereas, in the same herd, 8,5 out of 100 animals were found to show clinical symptoms of brucellosis (hygromas, abortions).

During this investigation, these different strains have been isolated ; 5 showed the characteristics of *Brucella melitensis* var. *abortus*, whereas the sixth belonged to the type *Brucella melitensis* var. *intermedia* (Renoux's classification).

A prophylactic schedule is suggested and its means of application discussed.

## RESUMEN

## La Brucelosis bovina en el Senegal

Una encuesta sobre la brucelosis bovina en el Senegal acaba de terminarse.

La observación de las leches por el método del test del anillo mostró que esta enfermedad estaba encontrada en todo el país.

Los test serológicos (sero-aglutinación lenta en tubos) permitieron comprobar que 13,3 por 100 de los sueros probados eran positivos mientras que, en los mismos rebaños, se podía observar 8,5 por 100 de los animales presentando signos clínicos de brucelosis (higromas, abortos).

Durante esta encuesta, estas cepas fueron aisladas ; 5 de ellas tienen los caracteres de *Brucella melitensis* var. *abortus*, mientras que la sexta sería del tipo *Brucella melitensis* var. *intermedia* (Clasificación de Renoux).

Se propone un programa de profilaxis y se discuten sus modalidades de aplicación.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AMARO (Ed.). — **La lutte contre la brucellose bovine au Mozambique.** *Bull. Off. inter. Epiz.*, 1957, 47, 681.
2. ARMENGAUD (J.), CHAMBRON (J.), CADIL-LON (J.), CHAMBON (L.), GUERIN (M.), BOURGOIN (J. J.) et DIOP MAR (I.). — **Un foyer de brucellose à *Brucella melitensis* au Sénégal (région de Diourbel). A propos de deux observations de malades hospitalisés et d'une enquête épidémiologique effectuée à leur village.** *Bull. Soc. méd. Afr. noire*, 1963, 8 (1), 109.
3. BAUER (H.). — **A study of *Brucella* and *Proteus urease*,** Ph. D. Thesis, 1949, Université de Minnesota.
4. BLANCHARD (A.) et COULIBALY (S.). — **Recherches sur la brucellose bovine en Haute-Volta (A. O. F.).** *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, 1954, 7, 153.
5. BOURGUIGNON (G.). — **Le premier cas de fièvre ondulante diagnostiqué bactériologiquement au Congo-Belge et ses affinités sérologiques avec *Brucella melitensis*.** *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1933, 13, 249.

6. BOURREL (P.) et SOUVESTRE (R.). — Premiers cas africains de méliococcie vertébrale à propos de 3 cas dépistés au Soudan. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1960, 53 (1), 67.
7. BOURRET (G.). — La fièvre méditerranéenne en A. O. F. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1910, 3, 490.
8. BRUCE (W.). — Brucellosis. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, 10, 187.
9. CAMARA (A.). — Le Bakalé est-il de la brucellose ? *Bull. Serv. zootechn. Epiz. A. O. F.*, 1948, 1, 24.
10. Cartes de distribution de la brucellose bovine *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, 10 (3), 484, et 1963, 11 (4), 487.
11. CECCALDI (J.) et GUILHAUMOU (F.). — La brucellose humaine en A. E. F. Isolement d'une souche de *Brucella melitensis* à l'occasion du premier cas constaté au Tchad dans l'Ennedi. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. afr. fr. libre*, 1942, 1, 11.
12. CHALUMEAU (P.). — Bakalé et brucellose au Sénégal et en Haute-Volta. *Bull. Serv. Elev. Ind. anim. A. O. F.*, 1950, 3 (1), 7.
13. DAFALLA (E. N.) et KHAN (A.). — The occurrence, epidemiologie and control of animal brucellosis in the Sudan. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1958, 6 (3), 243.
14. DAFALLA (E. N.). — The importance of animal and human brucellosis in the Sudan. *Sudan J. vet. Sci.*, 1962, 3 (2), 80.
15. DAFNI (I.). — Bovine brucellosis and vaccination with strain 19 vaccine. *Refuah Vet.*, 1958, 15 (1), 49.
16. Deuxième rapport du Comité Mixte F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1953, sér. rap. techn., n° 67.
17. Direction des Services vétérinaires de l'Hérault « Le laboratoire régional des brucelloses de Montpellier ». 1962, bull. n° 3.
18. ELMES (B. G. T.). — Undulant fever in Nigeria. *Ann trop. Med. Parasit.*, 1941, 35, 1.
19. EL NASRI (M.). — Brucellosis in south Sudan. *Vet. Rec.*, 1960, 72, 1200.
20. FLEISCHHAÜER (G.). — Die Abortus Bang Ringprobe (A. D. R.) zur Feststellung von Bangverdächtigen Vollmilchproben. *Berl. tierärztl. Woch.*, 1937, 53, 527.
21. GORET (P.) et PILET (C.). — La vaccination des bovins par le vaccin B 19 et les vaccins semblables. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102, 774.
22. GORET (P.) et PILET (C.). — Le vaccin B 19 dans la prémunition antibrucellique des bovins. *Rec. Méd. vét.*, 1963, 139, 371.
23. HAUSCHILD (A. H. W.) et PIVNICK (H.). — Continuous culture of *Brucella abortus* B 19. *Canad. J. Microbiol.*, 1961, 7, 491.
24. HENRY (B. S.). — Dissociation in the genus *Brucella*. *J. infect. Dis.*, 1933, 52, 374.
25. HOFFMANN (F.), SZABO (A.) et SZAKMARY (G.). — The grown of *Brucella* B 19 strain in fermentation apparatus. *Acta vet. Acad. sci. Hungaricae*, 1959, 9 (4), 418. Analyse n° 180 dans *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1960, 13, 351.
26. HUDDLESON (I. F.). — Differentiation of the species of the genus *Brucella*. Symposium on undulant fever, Annual meeting of the *Am. Publ. Hlth. Ass.*, 1928, 18, et *Am. J. publ. Hlth. Ass.*, 1931, 21, 491.
27. HUDDLESON (I. F.). — Emergency during growth of *Brucella* strains on dye-agar media of cells that show changes in sulfur metabolism. *Bull. Org. mond. Santé*, 1961, 24, 91.
28. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — Quelques considérations sur la brucellose du lièvre à propos de 8 cas identifiés en France. *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, 87, 218.
29. JOUBERT (L.), BERTRAND (M.) et FERNEY (J.). — La prophylaxie de la brucellose. Proposition d'un programme de lutte anti-brucellique en France. *Cahiers méd. vét.*, 1964, 33 (3), 69.
30. LEBLANC (J.), LAMBILLON (J.) et DENISOFF (N.). — Note préliminaire au sujet de quatre cas de brucellose identifiée au Centre médical de la Formulac, au Kivu (Congo belge). *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1939, 19, 197.
31. LEHNERT (C.). — Über den Einfluss hypertotonischer Kochsalzlösung auf den Allgutinationstiter bei Rinderbrucellose. *Arch. exp. veterinärmed.* 1959, 13, 851.

32. LISBONNE (M.) et ROMAN (G.). — Recherches sur la différenciation des *Brucella* par le milieu de Pétragnani. *Rev. microbiol.*, Paris, 1936, 2, 57-61
33. Mc CULLOUGH (N. B.) et BEAL (G. A.). — The biological stability of the genus-*Brucella*. *Bull. Org. mond. Santé*, 1958, 19, 725.
34. MAHLAU (E. A.) et HAMMOND (J. A.). — A brucellosis survey of the western areas of Tanganyika. *Bull. epiz. Dis. Afr.*, 1962, 10, 511.
35. MALBRANT (R.), CECCALDI (H.), GUILHAUMOU (J.) et GROSPELLIN (R.). — Brucellose bovine, trypanosomiase et prémunition. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. Afr. fr. libre*, 1943, 2, 199.
36. MERCIER (L.) et BORDES (L. A.). — Deux cas de méliococcie contractée en Indochine et en Afrique Occidentale française. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1936, 640.
37. MERLE (F.). — Apparition de la fièvre de Malte au Niger. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1953, 46 (2), 211.
38. MORTELMANS (J.). — Sur une méthode pratique pour la conservation de sérum destiné au diagnostic de la brucellose. *Bull. agric. Congo belge*, 1953, 44 (4), 779.
39. MOUSTARDIER (G.). — Premier cas de méliococcie observé en A. E. F. *Rev. Sci. méd. pharm. vét. Afr. fr. libre*, 1942, 1, 3.
40. PACHECO (G.) et MELLO (M. T. DE.). — A urease test for the differentiation of *Brucella suis*. *J. Bact.*, 1950, 59, 689-691.
41. PELTIER (E.), ARQUIE (E.), DURIEUX (C.) et JONCHÈRE (H.). — Brucellose humaine en Afrique Occidentale française. Isolement d'une souche de *Brucella melitensis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1938, 31, 575.
42. PERGHER (G.) et NOËL (G.). — Note sur la fièvre ondulante au Ruanda-Urundi. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1936, 16, 217.
43. PERREAU (P.). — La brucellose bovine au Tchad. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1956, 9, 247.
44. PERREAU (P.). — Note sur la culture dense en milieu liquide de *Brucella abortus*, souche 19. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, 15, 133.
45. **Projet du Ministère de l'agriculture. Plan de prophylaxie de la brucellose.** *Bull. synd. nat. vét.*, 1964, 43 (5), 337.
46. RENOUX (G.). — Note sur la fièvre ondulante au Ruanda-Urundi. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1936, 16, 217.
47. RENOUX (G.) et QUATREFAGES (H.). — Identification des *Brucella* par leur activité uréasique ; comparaison avec les autres méthodes de différenciation. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, 80 (2), 183.
48. RENOUX (G.) et CARRÈRE (L.). — De la valeur des caractères d'identification des *Brucella*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 277.
49. RENOUX (G.). — La classification des *Brucella*. Remarque à propos de l'identification de 2.598 souches. *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82 (3), 289.
50. RENOUX (G.). — Une nouvelle méthode de différenciation des variétés de *Brucella*. Action du Diethyldithiocarbamate de soude (DETC). *Ann. Inst. Pasteur*, 1952, 82, 556.
51. RENOUX (G.). — Préparation des sérums mono-spécifiques anti-*abortus* et anti-*melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1958, 35 (1), 87.
52. RENOUX (G.). — La notion d'espèce dans le genre *Brucella*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 94 (2), 179.
53. RENOUX (G.). — Nouvelles épreuves bactériostatiques pour différencier les *Brucella*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1960, 37 (1), 23.
54. RENOUX (G.). — Brucellose. Taxonomie des *Brucella*. Étiologie et épidémiologie de la brucellose humaine. Sa prophylaxie. *Rev. Path. gén.* 1961, 61, 439 et 457.
55. ROSSI (P.) et DUTILLOY (Y.). — L'épreuve de l'anneau *Abortus-Bang-Ring-probe* (A. B. R.) ou *ring-test* (R. T.) dans la brucellose bovine. *Bull. Acad. vét. Fr.*, 24, 485 et 525.
56. SACQUET (E.). — La brucellose bovine au Tchad (note préliminaire). *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1955, 8, 5.
57. SICE (A.), ROBIN (C.) et BERNARD (Y.). — A propos de deux cas de méliococcie contractés au Soudan français (cercle de GAO) et provoqués par *B. Melitensis*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1939, 32 (4), 409.

58. SISSOKO (B.). — Note sur les brucelloses bovines, ovines et caprines en A. O. F. *Bull. Serv. zootechn. Epiz. A. O. F.*, 1939, 2 (1), 27.
59. TENDEIRO (J.) et GOMES (F.). — Lesoes articulares na brucelose bovina oeste-africana. *Bol. cult. Guinée port.*, 1952, 7, 773.
60. THIENPONT (D.), VANDERVELDEN (M.), FAGARD (P.) et MORTELMANS (J.). — L'hypogroma brucellique : l'aspect clinique caractéristique de la brucellose bovine au Ruanda-Burundi. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1961, 14 (3), 257.
61. Troisième rapport du Comité mixte F. A. O./O. M. S. d'experts de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1958, sér. rap. tech., n° 148.
62. ULBRICH (F.). — Die Rolle der verschiedenen Vakzinationsmethoden im Kampf gegen die Rinderbrucellose. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1960, 54, 418.
63. VUILLAUME (H.). — Méthodes de lutte mises en œuvre dans les pays d'Europe. *Encycl. vét. périod.*, 1962, 19 (6), 1.
64. VAN DRIMMELEN (G. C.). — Recent developments of the epidemiology of brucellosis in south Africa. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1961, 41, 73.
65. WASHKO (F. V.), BAY (W. W.), DONHAM (C. R.) et HUTCHINGS (L. M.). — Studies of the pathogenicity of *Brucella abortus* for swine. *Am. J. vet. Res.*, 1951, 12, 320.
66. WILSON (D. E.) et EVANS (S. A.). — Results of passage of human and monkey strains of *Brucella melitensis* through pregnant heifers. *J. comp. Path. Therap.*, 1936, 49, 336.
67. Zoonoses. — Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la brucellose. *Org. mond. Santé*, 1954, série des monographies, n° 19, 101.