

Prophylaxie médicale de la brucellose animale

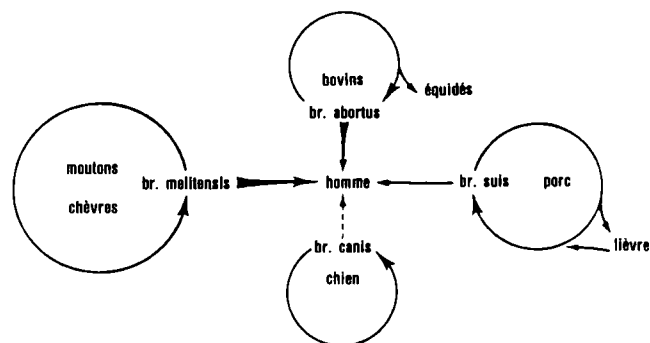
L. Valette ¹

VALETTE (L.). Prophylaxie médicale de la brucellose animale. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, 40 (4) : 351-364.

L'importance de l'éradication de la brucellose animale implique que tous les moyens utilisables soient mis en oeuvre. Il importe donc d'établir le diagnostic puis l'importance de l'infection brucellique puis de procéder à une prophylaxie médicale ou sanitaire. Les différents outils existant pour cette prophylaxie sont présentés. Dans une première partie, les différentes méthodes de diagnostic sérologique sont évoquées et comparées. Il est retenu que les méthodes de dépistage à utiliser dès le début de cette recherche sont la réaction d'agglutination rapide à l'antigène tamponné Rose Bengale et la réaction de recherche des anticorps lactés *Ring Test*, puis pour confirmer ce diagnostic la réaction de fixation du complément. Dans la seconde partie, les principaux vaccins sont présentés et comparés, agglutinogènes ou non agglutinogènes, vivants ou inactivés. Les différentes étapes d'une prophylaxie, variables selon le niveau d'infection et le mode d'élevage, sont enfin évoquées et les résultats de cette prophylaxie, obtenus en France, sont présentés. *Mots clés* : Animal domestique - Brucellose - Diagnostic - Technique immunologique - Prophylaxie - Vaccin - France.

INTRODUCTION

La brucellose animale ne représente pas seulement un risque important pour la santé humaine, elle est également responsable de pertes économiques considérables pour l'élevage et la production laitière.



(Extrait de *Zoonoses Infectieuses*, Ecoles vétérinaires)

Fig. 1 : Schéma épidémiologique de la brucellose zoonose.

1. Fondation Marcel Mérieux, 17 rue Bourgelat, 69002 Lyon, France.

L'élimination du risque brucellique pour l'homme passe par l'élimination de la seule source de contamination : la brucellose animale. L'éradication de cette infection doit passer par le diagnostic de l'infection, l'inventaire du niveau de l'infection dans le pays, puis la mise en place d'une prophylaxie médicale et sanitaire. C'est la partie médicale de cette prophylaxie qui sera examinée ici après l'évocation des diverses méthodes de diagnostic utilisées dans la prophylaxie de la brucellose (Fig. 1).

LES METHODES USUELLES DE DIAGNOSTIC

Un plan de prophylaxie de la brucellose animale commence toujours par un dépistage des animaux infectés. Celui-ci peut être clinique en surveillant les avortements mais doit être aussi expérimental pour mettre en évidence les animaux infectés de façon latente. Les méthodes utilisables sont les méthodes bactériologiques, sérologiques et allergiques. Les examens bactériologiques visent à mettre en évidence la bactérie responsable, éventuellement par coloration, ou plus sûrement par culture à partir de prélèvements placentaires ou foetaux. Seuls ces examens permettent l'étude épidémiologique par isolement et typage de la bactérie isolée (2, 21).

La méthode allergique, qui fait appel à un extrait bactérien soluble, la mélitine, a un intérêt en médecine humaine pour sa simplicité et sa fidélité, mais n'est guère utilisée en médecine animale ; elle n'est valable que chez les ovins (28). Elle décèle un état allergique pouvant exister depuis longtemps (31).

Les méthodes sérologiques sont utilisées en médecine vétérinaire sur une très grande échelle, pour le dépistage systématique de la brucellose. Elles ont donné lieu à des études statistiques intéressantes, à des automatisations utiles et à des comparaisons qui permettent de les situer quant à leur simplicité, fidélité et sensibilité. Ce sont ces méthodes qui seront évoquées avec plus de détails car elles constituent le point de départ d'une prophylaxie.

Après avoir brièvement examiné les structures des

L. Valette

immunoglobulines responsables de ces réactions, les tests d'agglutination, de fixation du complément et d'immunofluorescence d'hémagglutination passive seront tour à tour abordés, avant les examens sérologiques pratiqués sur le lait.

Les anticorps (Fig. 2)

Les diverses immunoglobulines trouvées dans l'infection brucellique

Les trois sortes d'anticorps susceptibles d'intervenir dans les réactions sérologiques utilisées (43) en dépistage de la brucellose sont :

— IgM ou macroglobuline, d'un poids moléculaire de 1 000 000, de constante de sédimentation 19 S, appelée autrefois Bêta 2 M à cause de la migration électrophorétique, ne traversant pas le placenta, représentant une polymérisation de 5 sous-unités reliées par des ponts disulfures.

IgM	IgG
- les premiers apparus après infection (4 ^e à 10 ^e jour) ou après vaccination	- apparition plus tardive (10 ^e à 20 ^e Jour)
- disparaissent après quelques mois	- persistent pendant l'infection
- poids moléculaire élevé (19 S) sédimentent rapidement	- poids moléculaire plus faible (7 S)
- sensibles au mercaptoéthanol	- résistent au mercaptoéthanol
- fixent peu le Complément	- fixent toujours le Complément
- sensibles à la chaleur	- peuvent être sous forme "Ac incomplets"
- sensibles au pH acide	- résistants
	- résistants

Fig. 2 : Les anticorps brucelliques.

Ces quelques caractéristiques expliquent que ces IgM soient thermolabiles et sensibles au mercaptoéthanol qui rompt les ponts disulfures. Ces anticorps sont agglutinants et fixent peu le complément (15, 17).

— IgG ou gammaglobuline, d'un poids moléculaire de 160 000, de constante de sédimentation 7 S, capable de traverser le placenta, résistant à 60 °C (3) et au mercaptoéthanol (4), fixe bien le complément.

— IgA voisine des globulines des sécrétions, d'un poids moléculaire moyen de 160 000, de constante de sédimentation 11 S, incapable de traverser le placenta. Elle ne fixe pas le complément.

Evolution du taux de ces anticorps

L'injection vaccinale provoque une montée nette du

taux des IgM suivie de l'apparition plus tardive des IgG. Une revaccination ne fait apparaître que des IgG (60) (Fig. 3 et 4).

Lors d'une infection aiguë, c'est un mélange IgM-IgG qui supporte les anticorps antibrucelliques. Après le

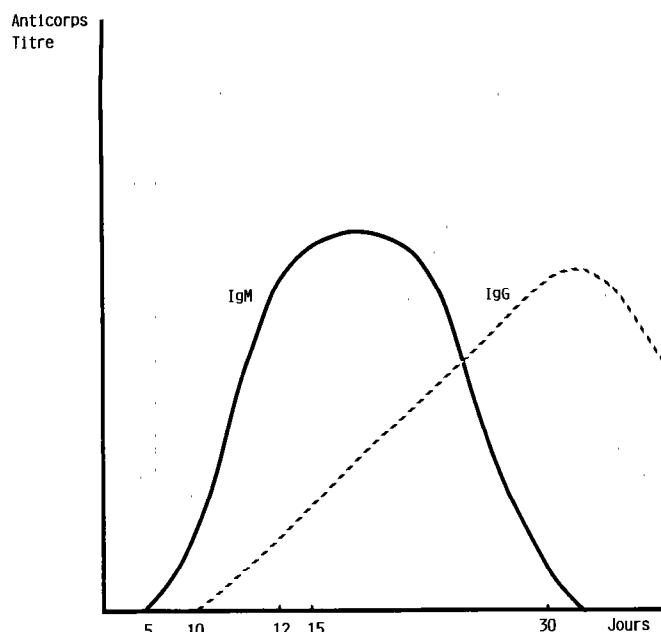


Fig. 3 : Réponse à une vaccination.

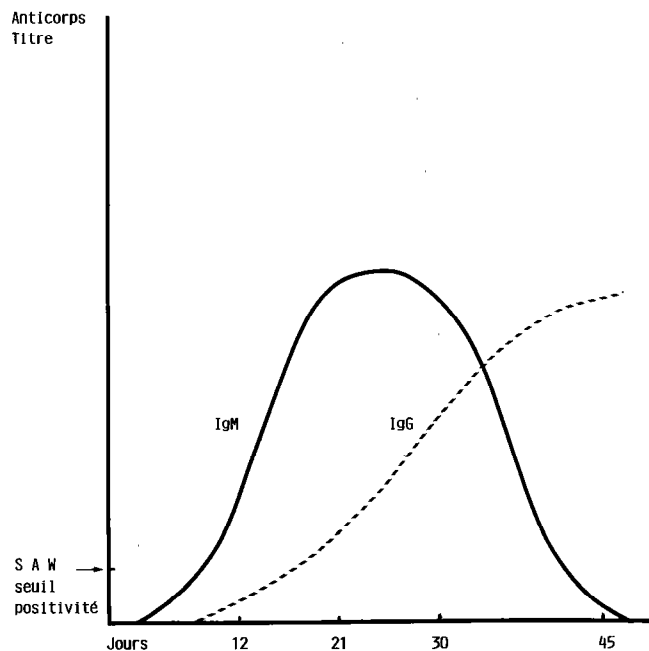


Fig. 4 : Réponse à l'infection.

traitement, le taux des IgG diminue progressivement et il reste un faible taux d'IgM. Chez les brucelliques chroniques, c'est au contraire un faible taux d'IgG et IgA qui persiste et dont la sécrétion peut s'expliquer par une persistance bactérienne ganglionnaire.

Chez l'animal, l'injection de vaccins « agglutinogènes » vivants, comme la souche atténuée B 19, ou tués et en excipients huileux comme celui préparé avec la souche H 38, provoque une montée d'anticorps IgM puis IgG. Le taux maximum est atteint entre 8 et 15 jours après l'injection, optimum en IgM au 10ème jour, optimum en IgG au 30ème jour, puis décline lentement pour devenir nul entre 120 et 200 jours après, selon l'âge et la race de l'animal. Des anticorps non agglutinants sont parfois aussi détectés (7) : ce sont souvent une fraction des IgG appelée IgG1. Cette séparation en IgG1 et IgG2 est effectuée par chromatographie sur DEAE cellulose (17, 25).

Après une infection virulente de l'animal, les mêmes phénomènes apparaissent, mais les IgG atteignent un niveau plus élevé et persistent bien plus longtemps. Ce sont en majorité des IgG1.

Chez les ruminants, c'est par le colostrum que les jeunes absorberont les anticorps antibrucelliques qui seront des IgG1.

Détection spécifique de ces classes d'anticorps

Aucune méthode ne permet de détecter de façon absolue telle classe d'anticorps antibrucellique (Tabl. I).

On a vu cependant que IgG et IgA agglutinent normalement les *Brucella*. IgA n'en fixe pas le complément et IgM fixe peu le complément. Dans les IgG, seule IgG2 agglutine les bactéries en méthode normale ; en solution hypersalée IgG1 et IgG2 sont détectées comme dans le test de Coombs. En agglutination à pH acide (pH = 3,6) seule l'IgG1 est détectée.

Dans certains sérums un excès d'IgG1 peut inhiber le pouvoir agglutinant de l'IgG2 (25) (Fig. 5).

La réaction de Coombs, ou détection indirecte des anticorps (7) en utilisant des sérums monospécifiques de chaque immunoglobuline permet, dans un but purement expérimental, de détecter chaque classe d'anticorps. Il en est de même pour les autres méthodes indirectes ELISA et immunofluorescence qui seront évoquées plus loin.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Séro agglutination de Wright en tubes - Séro agglutination sur lame, agglutination de Latex - Micro agglutination avec antigène coloré - Agglutination d'un antigène coloré, tamponné, acide - Fixation du Complément - Test à l'antiglobuline (Coombs) - Test au Mercaptoéthanol, au Rivanol - Immunofluorescence indirecte - Hémagglutination passive - Test d'hémolyse indirecte - Immunoprécipitation en gel - Test de Fixation en surface (Castaneda) - Radio immuno essai - ELISA |
|--|

Fig. 5 : Les réactions sérologiques utilisées.

Les réactions d'agglutination

La séro-agglutination lente en tube (en séro-agglutination de Wright)

C'est la plus répandue des réactions de diagnostic. Le titre obtenu est donné par la plus haute dilution du sérum agglutinant encore l'antigène. Pour un sérum donné, le titre varie suivant l'antigène (76) : c'est pour uniformiser ces titres que l'on a adopté un système de notation en unités internationales utilisant un sérum étalon (10, 62, 63, 77), que les comités d'experts OMS/FAO ont défini dès 1954. La qualité de l'antigène doit être contrôlée de manière stricte afin d'éliminer toute une culture contenant des formes rugueuses (38, 80) qui donne des réactions faussement positives (Fig. 6).

TABLEAU I Détection des immunoglobulines après l'infection brucellique.

	IgM	IgG2	IgA	IgG
Agglutination	+++	+	+	+ zone ?
Fixation du Complément	+ ?	zone ?		+++
Test Rose Bengale	+			+++
Immunofluorescence indirecte	détection de toutes les immunoglobulines suivant la spécificité du sérum utilisé			
Coombs				
ELISA-RIA				
Ring Test (Lait)	+++		++	+

L. Valette

- Première réaction standardisée en U.I.
- Automatisation possible
- Réaction négative par défaut :
 - . phénomène de zone : excès d'IgG1 (NaCl 5 %)
 - . anticorps incomplets : IgG ou IgA (Coombs)
 - . immunotolérance (infection in utero)
 - . immédiatement après infection
- Réaction positive par excès :
 - . après vaccination
 - . non spécifique après vaccin Choléra
 - . non spécifique après *Yersinia enterocolitica* 9
 - . non spécifique après *Francisella tularensis*
- avec mercaptoethanol : seules IgG détectées

Fig. 6 : Agglutination.

Le contrôle de tous les lots, par un même laboratoire, comme cela se pratique en France pour la médecine vétérinaire, paraît très souhaitable.

L'exécution de la réaction très simple (54) (dilutions de sérum en eau salée à 8,5 p. 100) a pu être mécanisée ainsi que la lecture, qui est l'évaluation de l'opacité du liquide surnageant après 18 heures d'incubation à 37 °C.

En médecine vétérinaire, les taux de suspicion varient selon le contexte vaccinal : en milieu indemne et en absence de toute vaccination, le taux de suspicion est de 30 u.i., il est de 80 u.i. chez des génisses en élevage vacciné.

Il faut ajouter que cette réaction peut être exécutée en microméthode (30).

Limites de cette réaction

Des réactions par défaut existent et sont très gênantes dans le cadre des prophylaxies généralisées. Elles peuvent être dues à un excès d'IgG1 (73), ou à un état de tolérance expliquée par une infection *in utero* (25).

Une concentration saline élevée (5 p. 100) rend les IgG1 actives et permet de remédier au manque de réponse sérologique dû à cet excès de IgG1. La réaction de séro-agglutination lente est par contre défailante dans le cas d'une génisse infectée *in utero*, ou dans le cas d'une femelle gestante. Il existe aussi, bien sûr (32), des réactions positives par excès, non spécifiques, dues à des antigènes bactériens connus (*Yersinia*, *Pasteurella*).

La réaction de Coombs

Elle consiste à rechercher les anticorps incomplets. Le sérum anti-espèce employé peut être polyvalent ou

actif contre telle fraction des globulines. Il permet de détecter les IgA ou les IgG1 qui n'apparaissent pas dans la simple réaction d'agglutination (7). Les animaux infectés ont souvent des titres d'anticorps incomplets (IgG1) plus élevés que leur titre d'agglutinines.

Réaction au mercaptoethanol (4, 9)

C'est une réaction d'agglutination qui se fait en solution 0,2 M de mercaptoethanol. Elle ne met en évidence donc que les IgG, l'activité des IgM étant inhibée. Après vaccination, ces anticorps résistants au M.E. apparaissent les derniers et persistent moins longtemps. Ils persistent au contraire chez les infectés.

Ce test permet donc, en théorie, de différencier les anticorps vaccinaux, des anticorps d'infection.

Le principe du test d'inactivation à 65 °C qui détruit les IgM, est le même, ainsi que le test au rivanol qui permet aussi de séparer les IgM (9).

Test d'agglutination sur lame (Rose Bengale)

De nombreux tests décrits ont été effectués rapidement sur lame (23) : ils mettent en évidence une agglutination due à des IgM qui réagissent très rapidement et très fortement avec des bactéries colorées (5, 45). L'intérêt de cette réaction est dans la rapidité de la réponse, qui peut éviter un prélèvement et un envoi au laboratoire, et peut être effectuée au chevet du malade. L'inconvénient est la non quantification de la réaction et les risques d'erreur par défaut.

A pH acide, il a été démontré (17, 18, 43) que les IgG1 étaient les plus actives. Ce fait est intéressant puisque ces immunoglobulines semblent être les vrais témoins de l'infection brucellique. On sait par ailleurs que ces IgG1 interviennent dans la fixation du complément : on peut penser de ce fait que les résultats donnés par cette réaction de l'antigène Rose Bengale seront parallèles à ceux obtenus en fixation du complément (27). Cette hypothèse se révèle juste dans la pratique. On peut envisager, par exemple, de mécaniser cette réaction afin de la pratiquer sur tous les sérums arrivant au laboratoire comme premier tri. C'est ce qui est fait au Laboratoire britannique de Weybridge.

On peut, au contraire, faire cette réaction auprès du malade ou du suspect comme aux U.S.A. La France a adopté en médecine animale une attitude voisine de la réalisation anglaise.

La réaction de fixation du complément

La réaction

C'est une technique du type Kolmer qui est utilisée (2). On emploie habituellement un antigène particulière qui est une suspension de *Brucella* lavés. On préfère la fixation à froid (63). En médecine vétérinaire, la technique est codifiée en France par un texte officiel. De cette façon, les taux de fixation obtenus dans un laboratoire sont reproductibles. De plus, un étalon international (10) vient d'être adopté et complète ainsi les essais d'uniformisation (39) qui avaient été faits jusqu'à ce jour ; ainsi un sérum positif au 1/4 dans le système actuel (63) titre 20 unités de fixation.

Dans les deux médecines, cette réaction est la plus sûre. Elle supplée à la plupart des défaillances de la séro-agglutination. Le phénomène de zone y est exceptionnel (36) et les IgG qui fixent le complément sont des témoins sûrs de l'infection. Son seul défaut tient à son déroulement en deux temps, avec les témoins que cela exige, et à la nécessité de 4 réactifs au lieu d'un.

Automatisation

Après VARGUES (76, 78) l'automatisation de cette réaction a été proposée. Il a été démontré que la corrélation entre la méthode manuelle classique et cette méthode automatique était excellente (46). On peut même avec un seul auto-analyseur réaliser les réactions de fixation du complément et d'agglutination en utilisant un antigène coloré (78) ou mieux l'antigène Rose Bengale (47). Cette méthode automatique se prête bien à l'étude de la vitesse de fixation du complément sur le complexe antigène anticorps (77).

La réaction de fixation peut se réaliser aisément en microméthode (64) (Fig. 7).

- Réaction de Coombs
- Réaction d'Immunofluorescence indirecte
- Réaction ELISA
- Réaction RIA

Fig. 7 : Détection des classes d'immunoglobulines.

La réaction d'immunofluorescence indirecte

La technique indirecte d'immunofluorescence recherche à l'aide d'un sérum anti-espèce conjugué à un sel

de fluorescéine (29) la présence d'anticorps entourant des *Brucella* précédemment fixés sur une lame. L'excitation du conjugué fluorescent par une radiation ultraviolette invisible lui fait émettre une radiation visible s'il a pu se fixer sur les anticorps, eux-mêmes fixés sur les bactéries. L'absence d'anticorps se traduit par l'absence de fluorescence. La sensibilité de la méthode est très grande. Elle peut être très utile dans le dépistage de la forme chronique de la maladie (58).

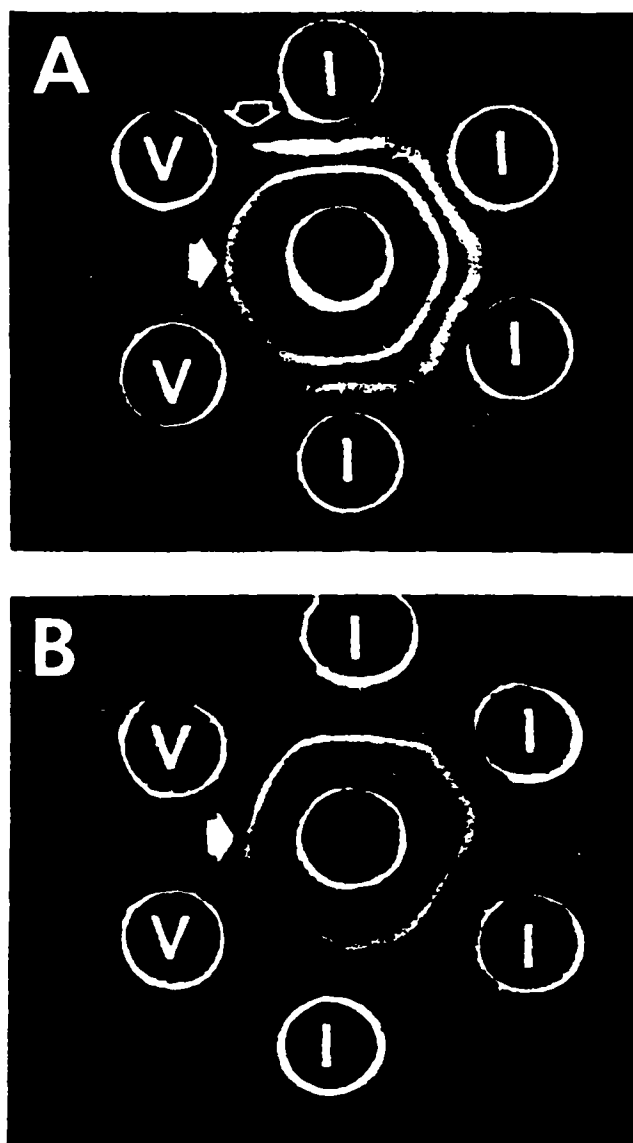


Fig. 8 : Immunodiffusion de la fraction phénol de 16 M (centre du puits) contre des sérums d'animaux infectés (I) ou vaccinés (V). Les gels contiennent 10 p. 100 de NaCl (A) ou 0,15 M de NaCl (B). Le LPS Poly B est indiqué par la flèche vide et le LPS Poly S par la flèche pleine.

L. Valette

La réaction de précipitation en gel

Bien que décrite surtout dans les études de la composition antigénique de souches ou d'extraits bactériens, cette méthode a pu être utilisée avec succès pour détecter des brucelloses humaines chroniques (70). L'antigène utilisé est soit l'antigène de Boivin glucido-lipido-polypeptidique, soit des parois de *Brucella*. Elle semble d'une excellente spécificité (24) (Fig. 8).

La réaction d'hémagglutination passive

En couplant sur des hématies un extrait de *Brucella* qui peut être soit un lipopolysaccharide soit un antigène intracellulaire, on obtient un réactif extrêmement sensible (19, 63, 66). La précocité de l'apparition des anticorps ainsi détectés est en médecine animale exceptionnelle : 7 jours après l'infection expérimentale, ils existent à un taux significatif. De plus, ce test n'a jamais été en défaut dans un essai d'infection, contrairement aux autres tests (67). Il semble même que le taux de ces anticorps augmente avant l'avortement au moment de la pullulation bactérienne *in utero*, ce qui permet de dépister sans faille l'infection brucellique dans un troupeau.

Tout au plus, peut-on reprocher à cette réaction très sensible d'être influencée par des vaccinations, théoriquement non agglutinogènes (20).

L'emploi de cette réaction pourrait, en médecine animale, s'étendre dans le cadre du dépistage de la brucellose dans les zones assainies où les erreurs par défaut sont les plus graves. En médecine humaine, elle paraît très utile dans le dépistage des maladies chroniques. Il en est de même d'une méthode d'hémolyse en gel récemment mise au point (71).

Tests effectués sur le lait

Le test de l'anneau ou *Ring Test*

C'est la recherche des anticorps agglutinants dans le lait. Les anticorps agglutinent les bactéries colorées et ces agglutinants fixés aux globules gras remontent à la surface. Un anneau coloré en surface traduit une réaction positive. La standardisation de ce test (56, 61, 68) permet de détecter régulièrement 2 ou 5 unités d'agglutination dans le lait.

Cette grande sensibilité permet l'utilisation de cette réaction dans des laits de mélange (8) ce qui est son plus grand intérêt. Les anticorps qui sont ainsi détectés peuvent être ceux du sérum mais peuvent aussi prendre naissance dans la mamelle : on a ainsi, lors de l'infection d'un quartier, un taux plus élevé d'anticorps que dans les quartiers sains (68). On a aussi

coexistence de l'excrétion de *Brucella* et d'anticorps agglutinants.

Par sa facilité d'exécution, le *Ring Test* est un des moyens de dépistage de la brucellose bovine (40, 50, 55) et ovine (13). Son extrême sensibilité est cependant la cause d'erreurs par excès. Il peut être très utile dans des étables assainies, où toute positivité est à considérer. On a 96 p. 100 de chances de trouver sur un lait de mélange de 25 vaches, deux animaux positifs (9).

Autres tests lactés

On peut pratiquer sur le lactosérum (20) des tests d'agglutination rapide ou de fixation du complément, ou même des agglutinations en tubes.

Radio immuno essai et enzyme immuno essai

Il est possible de coupler des sérums anti-immunoglobulines d'espèces (bovine, ovine...) avec un élément radioactif (iode 125) ou avec un enzyme. Ces méthodes indirectes permettent de mettre en évidence les anticorps ayant réagi avec un antigène fixé : ici des corps bactériens de *Brucella*.

Le radio immuno essai a été utilisé avec succès pour le diagnostic sérologique de la brucellose humaine chronique. Il permet de détecter spécifiquement les IgG, IgM ou IgA en cause dans l'affection.

Cas du diagnostic de l'infection à *Brucella ovis* et *B. canis*

Il faut remarquer que la communauté antigénique des 3 espèces *Brucella* : *abortus*, *suis* et *melitensis*, permet de dépister sérologiquement les infections dues à l'une de ces 3 espèces avec un même antigène préparé avec *B. abortus*.

En général, la même souche Br *abortus* n° 99, délivrée par le Laboratoire Central Vétérinaire de Weybridge, sert à préparer tous les antigènes utilisés dans les techniques décrites.

Deux nouvelles espèces bactériennes, *Brucella canis* et *Brucella ovis*, se distinguent cependant : elles n'ont pas d'antigène commun avec les autres espèces. Il faut de ce fait, pour pouvoir pratiquer le diagnostic sérologique de ces affections, utiliser deux antigènes différents.

B. ovis : la réaction sérologique utilisée est la fixation du complément. L'antigène est extrait par chauffage d'une culture rugueuse de *B. ovis*. On peut aussi utiliser cet antigène dans une réaction de précipitation en gel (79).

B. canis : la réaction de fixation du complément utilisant un antigène extrait par la chaleur peut être utilisée. Mais une épreuve d'agglutination utilisant un antigène coloré est décrite par CARMICHAEL et donne toute satisfaction (33).

Commentaires

Dans la brucellose, les anticorps ne sont que des témoins, ils ne participent pratiquement pas à la défense immunitaire. Ils peuvent être suscités par l'infection ou par la vaccination.

Les réactions utilisées pour le diagnostic doivent être simples : test au Rose Bengale, séro-agglutination, fixation du complément, sont dans l'ordre les trois réactions qui seraient à retenir, avec des *Ring Tests* nombreux et répétés.

LA VACCINATION

Le conflit majeur qui existe en matière de brucellose entre prophylaxie médicale et prophylaxie sanitaire, provient du fait qu'il est pratiquement impossible, ou très difficile, de distinguer les anticorps post-vaccinaux des anticorps post-infectieux : on ne peut à cause de cela séparer des animaux infectés des animaux vaccinés. Pour cette raison, on achèvera toujours l'éradication de la brucellose animale en ne maintenant qu'une seule surveillance sanitaire qui ne sera pas altérée par des interventions vaccinales : seules subsisteront ainsi les vaccinations des jeunes animaux et les vaccinations utilisant des vaccins réellement non agglutinogènes.

Les vaccins

Ils sont soit à base de bactéries vivantes, soit à base de bactéries inactivées et comportent dans ce cas des adjuvants de l'immunité. Ils peuvent être non agglutinogènes (Fig. 9).

Le vaccin B 19

C'est une suspension de *Brucella abortus* atténuée (81). La dose vaccinante a été longtemps fixée à 50 milliards par animal (Fig. 10).

On sait maintenant qu'une dose 10 fois plus faible (89) suffit à immuniser. La voie conjonctivale, voie naturelle de l'infection, est excellente pour ce vaccin (90, 91), apportant une immunité locale rapide sans répercussion sérologique prolongée. Son emploi sur des animaux jeunes permet de pallier son pouvoir agglutinogène très net sur des animaux plus âgés ou en cas de rappels (Fig. 11).

LA VACCINATION DES BOVINS :

- VACCIN VIVANT B 19
- VACCIN INACTIVE H 38 (*Br. melitensis*)
- VACCIN INACTIVE NON AGGLUTINOGENE 45/20

LA VACCINATION DES OVINS

- VACCIN VIVANT Rev. 1
- VACCIN INACTIVE H 38

Fig. 9 : Vaccination des bovins et des ovins.

SOUCHE Br. ABORTUS ATTENUÉE PAR BUCK

DOSE BOVINE NORMALE $50 \cdot 10^9$ bactéries vivantes

POSSIBILITE DOSE REDUITE, DE VOIE OCULAIRE

(Vaccin lyophilisé)

Fig. 10 : Vaccin B 19.

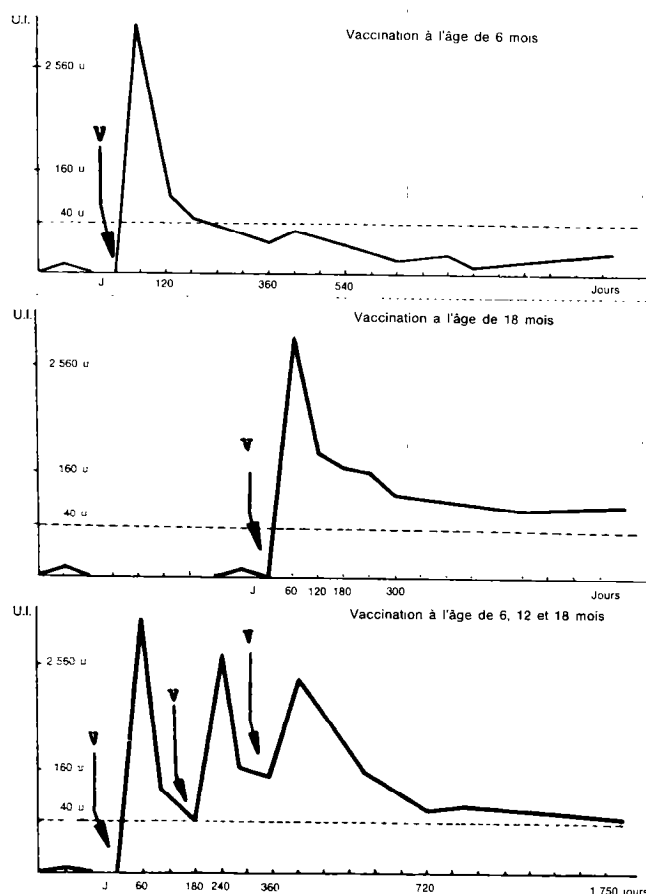


Fig. 11 : Vaccinations B 19 et sérologie (selon Stableforth).

L. Valette

La nécessité de la conservation d'une vitalité bactérienne suffisante a conduit à lyophiliser les suspensions vaccinales : ce fut sans doute le premier vaccin à bénéficier de cette technique.

Le vaccin H 38

C'est un vaccin inactivé en adjuvant huileux (85, 91, 92). L'antigène vaccinal est représenté par une suspension de *Brucella melitensis*, souche H 38, inactivée par le formol (Fig. 12).

SOUCHE B. MELITENSIS H 38 INACTIVÉE PAR LE FORMOL,
DISPERSÉE EN ADJUVANT HUILEUX
450 . 10⁹ de corps bactériens par dose bovine
Vaccin agglutinogène

Fig. 12 : Vaccin H 38.

Ce vaccin utilisé en deux injections à 2 mois d'intervalle est très agglutinogène mais très actif (Tabl. II).

L'animal vacciné est ainsi « marqué » sérologiquement pour très longtemps, surtout si en milieu très infecté, il reçoit un ou deux rappels. Cette positivité sérologique marquée évitera son transfert d'une zone infectée en une zone saine. L'excellente protection conférée permet d'arrêter dans une exploitation infectée, les avortements et l'excrétion et donc de faire diminuer le niveau de l'infection ambiante (93).

Le vaccin 45/20

C'est un vaccin non agglutinogène. Il est préparé à

TABLEAU II Contrôle d'activité de vaccins brucelliques sur génisses, Fougères 1973 (Dhennin, Bull. Acad. vét., 1973).

	Génisses protégées (*)
Lot vacciné : avec B. 19 (une injection) avec H. 38 (2 injections à 2 mois) avec 45/20 (2 injections à 1 mois rappel à un an)	71 p. 100 100 p. 100 82 p. 100
Non vaccinés	9 p. 100

(*) Génisses ayant donné naissance à des veaux vivants et viables sans excréter de *Brucella*

partir d'une suspension de *Brucella abortus*, souche 45/20, en phase rugueuse, formolé et dispersé en adjuvant huileux. Il ne suscite pas la production d'anticorps circulants (88) et apporte, en injections répétées, une protection utile (Fig. 13).

SOUCHE B. ABORTUS 45/20 DE Mc EWEN
EN PHASE RUGUEUSE, INACTIVÉE PAR LE FORMOL
DISPERSÉE EN ADJUVANT HUILEUX
450 . 10⁹ corps bactériens par dose bovine
Vaccin non agglutinogène

Fig. 13 : Vaccin 45/20.

Le vaccin Rev 1

Il est utilisé chez les ovins (Fig. 4).

Préparé (84) à partir d'un mutant reverse d'une souche de *Brucella melitensis* streptomycino-dépendante, il est très actif, mais contre-indiqué chez les brebis gestantes. Il est très largement utilisé dans les régions d'élevage où la brucellose ovine est endémique.

Les schémas de vaccination (Fig. 15)

Selon l'importance de l'infection brucellique ambiante, plusieurs schémas de vaccination peuvent être proposés. Dans un milieu très infecté (plus de 15 p. 100 des troupeaux infectés), il est souvent impossible économiquement de procéder à un abattage systématique de tous les bovins ayant un taux positif d'anticorps. Dans ce cas, il faut alors faire diminuer le taux d'infection avec un vaccin très efficace, H 38 (ou Rev 1 chez les ovins) par exemple, même si celui-ci est agglutinogène. Les animaux sont de toutes façons condamnés à ne pas sortir de la zone infectée. En éliminant, bien sûr, toutes les femelles ayant avorté, en prenant **tous les soins sanitaires** nécessaires (isolement, désinfection...) et en vaccinant tous les ruminants des exploitations, on réussira en quelques années à faire baisser la quantité de bactéries pathogènes dans le milieu.

« L'épreuve virulente » des élevages deviendra plus faible, et les animaux n'avorteront plus. On pourra alors progressivement, **après toutes les précautions sanitaires usuelles**, passer à une prophylaxie mixte médicale-sanitaire : vaccination des génisses avec le vaccin B 19 puis rappels avec le vaccin 45/20. Dans ces conditions, une surveillance sérologique devien-

dra possible, peu à peu, avec comme conséquence l'élimination des animaux à test sérologique positif.

MUTANT REVERSE DE LA SOUCHE B. MELITENSIS
 STREPTOMYCINO-DEPENDANTE (ELBERG)
 DOSE OVINE $2 \cdot 10^9$ bactéries vivantes
 (Vaccin lyophilisé)

Fig. 14 : Vaccin REV 1.

1. GENISSES A 6 MOIS B 19 → PROPHYLAXIE SANITAIRE
 2. RAPPELS POSSIBLES A 18 MOIS 45/20 → PROPHYLAXIE SANITAIRE
 3. MILIEU TRES INFECTE POUR FAIRE DIMINUER LE TAUX D'INFECTION
 AVANT DE COMMENCER LA PROPHYLAXIE SANITAIRE : H 3 8

Fig. 15 : Schémas de vaccination.

Il sera parfois utile, avant d'entamer cette seconde phase, d'introduire dans les élevages un ou deux animaux « sentinelles », non vaccinés, et dont l'état sérologique sera suivi très régulièrement, tous les deux mois par exemple. Si ces bovins restent sérologiquement négatifs, cela apporte la preuve qu'il n'y a plus élimination de *Brucella* dans le milieu par les autres animaux.

Commentaires

La prophylaxie de la brucellose doit toujours se terminer par une phase sanitaire, phase où la vaccination des seuls jeunes animaux n'est qu'un élément d'appoint. Mais dans certaines conditions, il faut parfois rendre le cheptel plus résistant à l'infection avant de commencer cette phase purement sanitaire. Il faut noter que pendant cette période d'achèvement de l'élimination de l'infection brucellique, la répétition des tests sérologiques simples et fiables est une garantie de succès : plus vite sera détecté l'animal suspect, plus vite il sera éliminé, plus sûr sera le résultat pour le troupeau. Dans ces conditions, on peut suivre les résultats obtenus en France (83) (Fig. 16 et 17).

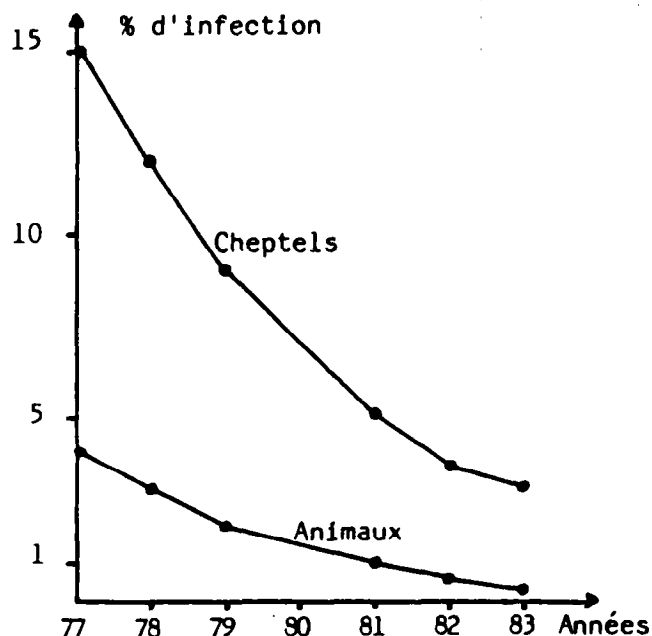


Fig. 16 : Courbe d'évolution de la prévalence de l'infection brucellique des bovins (source FNGDSB).

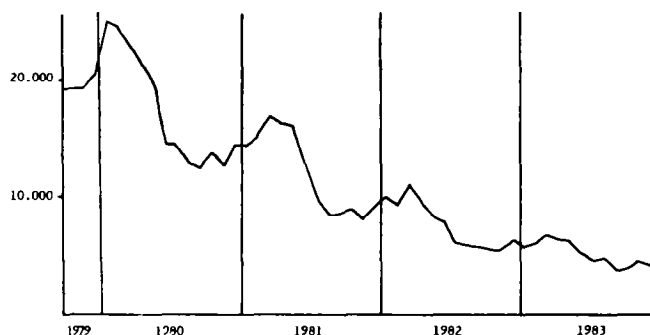


Fig. 17 : Evolution mensuelle de nombre de bovins brucelliques abattus (source D.Q.).

On voit que de 1977 à 1983 on est passé de 15 à 4 p. 100 de cheptels infectés, que le nombre de bovins mensuellement abattus pour brucellose est passé de plus de 20 000 à moins de 5 000, et le nombre annuel d'avortements brucelliques, forme la plus évidente et la plus dangereuse de l'infection, est passé de 50 000 à quelques milliers (Fig. 18).

L. Valette

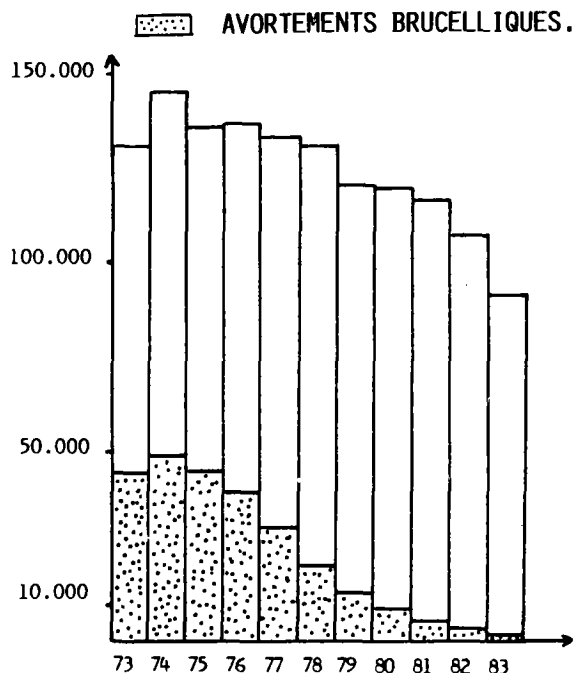


Fig. 18 : Evolution du nombre annuel d'avortements en France (source D.Q.).

VALETTE (L.). Medical prophylaxis of animal brucellosis. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (4) : 351-364.

The importance of the eradication of animal brucellosis calls for all available means to be put into action. It is therefore essential to establish the diagnosis, find out the extent of brucellar infection and then proceed to undertake medical or sanitary prophylactic measures. The various tools available for prophylaxis are presented. First, the various methods of serological diagnosis were described and compared. The detection methods selected at the beginning of this research are the rapid agglutination reaction, the Ring Test reaction for antibody detection, and to confirm this diagnosis, the complement fixation reaction. In the second part, the main vaccines are presented and compared, both agglutinogenic and non-agglutinogenic, live and inactive. Lastly, the different stages of prophylaxis, which vary according to the level of infection and the type of farming, are described and the results of this prophylaxis, obtained in France, are presented. *Key words* : Domestic animal - Brucellosis - Diagnosis - Immunological technics - Prophylaxis - Vaccine - France.

De la fiabilité du diagnostic, des soins apportés par l'éleveur, et de la valeur des vaccins, dépendent les résultats de la lutte antibrucellique. Cette lutte contre l'infection est toujours gagnée par le savoir faire et le bon sens de l'éleveur, avec des armes, souvent excellentes que sont les tests diagnostiques et les vaccins.

On sait que de cette lutte dépendent non seulement l'économie de l'élevage, mais aussi la santé humaine.

VALETTE (L.). Profilaxia medical de la brucelosis animal. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1987, **40** (4) : 351-364.

La importancia de la eradicación de la brucelosis animal necesita emplear todos los medios aprovechados. Es importante que se haga el diagnóstico, que se determine la importancia de la infección y al fin que se realice una profilaxia medical o sanitaria. Se presentan las diferentes posibilidades existentes para dicha profilaxia. En una primera parte, se dan y se comparan los varios métodos de diagnóstico serológico. Se escogen desde el principio de esta investigación los métodos de diagnóstico precoz siguientes : la reacción de aglutinación rápida con el antígeno taponado Rosa Bengal y la reacción de búsqueda de anticuerpos lacteos *Ring Test*, y la reacción de fijación del complemento para confirmar este diagnóstico. En la segunda parte, se presentan y se comparan las principales vacunas, aglutinogenas o no, vivientes o inactivadas. Se notan los diferentes estados de una profilaxia, variables según el nivel de infección y el tipo de ganadería y se presentan los resultados de dicha profilaxia obtenidos en Francia. *Palabras claves* : Animal doméstico - Brucelosis - Diagnóstico - Técnica inmunologica - Profilaxia - Vacuna - Francia.

BIBLIOGRAPHIE

Diagnostic

1. ALTON (G. G.). Standardization of agglutinating antigens for the diagnosis of brucellosis. *Res. vet. Sci.*, 1971, **12** : 330-337.
2. ALTON (G. G.), JONES (L. M.), PIETZ (D. E.). *Techniques de laboratoire en brucellose*. 2e ed. Rome, FAO, 1977. (Monographie n° 55).
3. AMERAULT (T.), LAMBERT (G.), MANTHEI (C.). The heat stability of *Brucella* agglutinins in bovine serum. *Am. J. vet. Res.*, 1962, **23** (96) : 1023.
4. ANDERSON (R.), JENNESS (R.), BRUMFIELD (H.). *Brucella* agglutinating antibodies relation of mercaptoethanol stability to complement fixation. *Science*, 1964, **143** : 3612.

5. BAURIAUD (R.), LEFEVRE (J. C.), DABERNAT (H.), LARENG (M. B.). Diagnostic sérologique de la fièvre de Malte. Etude comparative des tests classiques et d'un test rapide (Rose Bengale). *Med. Mal. infect.*, 1977, **7** : 323-327.
6. BRASSET (J.). Brucellose et agglutination rapide. *Presse méd.*, 1948, **56** (25) : 303-306.
7. BEH (H.), LASCELLES (A.). The use of the antiglobulin test in the diagnosis of bovine brucellosis. *Res. vet. Sci.*, 1973, **14** : 239-244.
8. BERTHELON (M.), ROYAL (L.). Recherche des moyens propres à éviter les défailances de l'épreuve de l'anneau dans les opérations de dépistage. *Revue Méd. vét.*, 1966, **117** : 201-207.
9. BRINLEY MORGAN (W. J.). The serological diagnosis of bovine brucellosis. *Vet. Rec.*, 1967, **80** (21) : 612-621.
10. BRINLEY MORGAN (W. J.), DAVIDSON (I.), NANCY HEBERT (C.). The use of second international standard for anti *Brucella abortus* serum in the complement fixation test. *J. Biol. Standard*, 1973, **1** : 43-61.
11. BRINLEY MORGAN (W. J.), McKINNON (D. J.), LAWSON (J. R.), CULLEN (C. A.). The Rose Bengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 1969, **85** : 636-641.
12. CALMELS (D.), VALETTE (L.), DESMETTRE (Ph.). Test immunoenzymatique ELISA appliqué à la recherche et au titrage des anticorps de *Brucella abortus*, choix de l'antigène et standardisation de la réaction. *Dev. Biol. Standard*, 1984, **56** : 471-481.
13. CARRERE (L.), ROUX (J.), QUATREFAGES (H.). L'épreuve de l'anneau pour la détection de la brucellose ovine. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 1952, **83** : 277-279.
14. CHAPPEL (R. J.), McNAUGHT (D. J.), BOURKE (J. A.), ALLAN (G. S.). The diagnostic efficiency of some serological tests for bovine brucellosis. *J. Hyg., Camb.*, 1978, **80** : 373-384.
15. CHUNG (Y. S.), HALL (W. T. K.), SIMMONS (G. C.). Immunoglobulin classes in serum: antibody reactions in cattle following vaccination with *B. abortus* B 19 and 45/20 vaccines. *Aust. vet. J.*, 1980, **56** : 413-416.
16. CLOPPET (H.), DENOYEL (G. A.), VINCENT (P.). A propos du diagnostic sérologique des brucelloses humaines. *Lyon Méd.*, 1977, **238** : 119-122.
17. CORBEL (M. J.). Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. *J. Hyg., Camb.*, 1972, **70** : 779-795.
18. CORBEL (M. J.). Studies on the mechanism of the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. *Br. vet. J.*, 1973, **129** : 157-166.
19. CORBEL (M. J.), DAY (C. A.). Assessment of indirect haemagglutination procedures for the serological diagnosis of bovine brucellosis. *Br. vet. J.*, 1973, **129** : 480.
20. CUNNINGHAM (B.). The occurrence of agglutinating, complement-fixing, and incomplete antibodies to *Brucella abortus* in milk and their relationship to the milk Ring Test. *Vet. Rec.*, 1971, **88** : 244-250.
21. DAVID (C.), DAZORD (L.), BONNIER (M.). Isolement indirect de *Brucella abortus* par inoculation à la souris à partir de placenta. *Dev. Biol. Standard*, 1984, **56** : 495-506.
22. DAVIES (G.). The Rose Bengal test. *Vet. Rec.*, 1971, **88** : 447.
23. DESPEIGNES (J.), BATTESTI (M.). Une méthode sur lame de séro-diagnostic rapide de la fièvre de Malte. *Path. Biol.*, 1969, **17** (15-16) : 787-789.
24. DIAZ (R.), GARATEA (P.), JONES (L. M.), MORIYON (I.). Radial immunodiffusion test with a *Brucella* polysaccharide antigen for differentiating infected from vaccinated cattle. *J. clin. Microbiol.*, 1979, **10** : 37-41.
25. DIAZ (R.), LEVIEUX (D.). Rôle respectif en sérologie de la brucellose bovine des antigènes et des immunoglobulines G1 et G2 dans les tests d'agglutination, de Coombs et au Rose Bengale ainsi que dans le phénomène de zone. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci.*, 1972, **274** (10) : 1593-1595.
26. DIAZ (R.), TOYOS (J.), SALVO (M. D.), PARDO (M. L.). A simple method for the extraction of polysaccharide B from *Brucella* cells for use in the radial immunodiffusion test diagnosis of bovine brucellosis. *Annls Rech. vét.*, 1981, **12** : 35-39.
27. FENSTERBANK (R.). Appréciation de la valeur de la réaction au Rose Bengale sur les sérums de génisses infectées expérimentalement avec *Brucella abortus*. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1973.
28. FENSTERBANK (R.), MAQUERE (M.). Assainissement d'un troupeau ovin atteint de brucellose par les moyens de prophylaxie sanitaire en utilisant l'épreuve au Rose Bengale. *Recl Méd. vét.*, 1978, **154** : 657-661.
29. FRIBOURG-BLANC (A.). Diagnostic sérologique de la brucellose par la technique d'immunofluorescence. *Presse méd.*, 1970, **78** (6) : 271-272.
30. GAULTNEY (J. B.), WENDE (R. D.), WILLIAMS (R. P.). Microagglutination procedures for febrile agglutination tests. *Appl. Microbiol.*, 1971, **22** (4) : 635-640.

31. GAUMONT (R.). Sur le diagnostic sérologique et allergique de la brucellose ovine. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1963, **60** : 369-382.
32. GAUMONT (R.). Sur le manque de signification des réactions d'agglutination de titre peu élevé en matière de brucellose. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1965, **63** (7-8) : 1047-1054.
33. GEORGE (L. W.), CARMICHAEL (L. E.). Development of a Rose Bengal stained plate test antigen for the rapid diagnosis of *Brucella canis* infection. *Cornell Vet.*, 1978, **68** (4) : 530-543.
34. GORRELL (M. D.) *et al.* An enzyme immunoassay for bovine brucellosis using a monoclonal antibody specific for field strains of *Brucella abortus*. *Dev. Biol. Standard*, 1984, **56** : 491-494.
35. GOWER (S. G. M.) *et al.* An automated Rose Bengal agglutination test using the Adam system. *Vet. Rec.*, 1974, **95** : 544-547.
36. GOYON (M.). Déviation du complément dans la brucellose : existence d'un phénomène de zone. *Recl Méd. vét.*, 1966, **142** : 587-590.
37. HECK (F. C.), WILLIAMS (J. D.), CRAWFORD (R. P.), FLOWERS (A. I.). Comparison of serological methods for the detection of *B. abortus* antibodies in sera from vaccinated and non vaccinated cattle. *J. Hyg., Camb.*, 1979, **83** : 491.
38. HENRY (B. S.). Dissociation in the genus *Brucella*. *J. infect. Dis.*, 1933, **52** : 374.
39. HILL (W. K.). Standardization of the complement fixation test for brucellosis. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1963, **60** : 401-417.
40. HUNTER (D.), ALLEN (J.). An evaluation of milk and blood tests used to diagnose brucellosis. *Vet. Rec.*, 1972, **91** : 310-312.
41. JONES (L. M.), BERMAN (D. T.), MORENO (E.), DEYOE (B. L.), NICOLETTI (P.), GILSDORF (M. J.). Evaluation of a radial immunodiffusion test with polysaccharide B antigen for diagnosis of bovine brucellosis. *J. clin. Microbiol.*, 1980, **12** (6) : 753-760.
42. KERR (W. R.), PAYNE (D. J.), COOMBS (R.). Immunoglobulin class of *Brucella* antibodies in human sera. *Immunology*, 1967, **13** : 223-225.
43. LEVIEUX (D.). Immunoglobulines bovines et brucellose. I. Purification des immunoglobulines. *Annls Rech. vét.*, 1974, **5** : 329-342. II. Activités des IgG1, IgG2 et IgM du sérum. *Annls Rech. vét.*, 1974, **5** : 343-353. III. Activity of IgG1, IgG2 and IgM versus different batches of Rose Bengal antigen. *Annls Rech. vét.*, 1978, **9** : 489-493.
44. MAC MAHON (K. J.). Comparison of an agar-gel immunodiffusion test with other serological methods for differentiating *Brucella* infected from vaccinated cattle. *Can. J. comp. Med.*, 1983, **47** : 86-87.
45. MERIEUX (Ch.), PAILLE (R.). Rôle de l'agglutination rapide dans le diagnostic des brucelloses animales. *Bull. Soc. Sci. vét. Lyon*, 1943, **85**.
46. MILLER (J. K.). Preliminary evaluation of an automated *Brucella* antibody screening system. *Res. vet. Sci.*, 1971, **12** : 199-202.
47. MILLER (J. K.), NETTLETON (P. F.), ROBERTSON (A.). Evaluation of a two-channel automated system for the sero diagnosis of brucellosis. *Vet. Rec.*, 1973, **92** (19) : 492-496.
48. MITTAL (K. R.), TIZARD (I. R.). Growth agglutination and growth inhibition tests in the diagnosis of brucellosis. *J. Hyg., Camb.*, 1979, **83** : 295-304.
49. NICOLETTI (P.). Utilization of the card test in brucellosis eradication. *J. Am. vet. Med. Ass.*, 1967, **151** (12) : 1778-1783.
50. NICOLETTI (P.), BURCH (G.). A comparison of the tube agglutination, supplemental and brucellosis ring test in selected dairy herds in New York. *Cornell Vet.*, 1969, **59** : 349-354.
51. OMS. La brucellose, techniques de laboratoire. 2e ed. Genève, OMS, 1975. (Monographie n° 55).
52. OMS. A guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. Genève, OMS, 1981. (VPH 81-31).
53. O'REILLY (D. J.), CUNNINGHAM (B.). An assessment of the brucellosis card test. *Vet. Rec.*, 1971, **88** (23) : 590-594.
54. PARIS HAMELIN (A.), IBARBOME (S.). Detection des réactions faussement négatives dans le séro-diagnostic de Whright. *Feuill. Biol.*, 1967, **8** (35) : 27.
55. PATTERSON (J. M.), DEYSE (B. L.). Effect of physical properties of milk fat globules on *Brucella* ring test sensitivity. *J. Dairy Sci.*, 1977, **60** : 851-856.
56. PIETZ (D.), ANDERSON (R. K.). A modified *Brucella* ring test of cream. *Am. J. vet. Res.*, 1967, **28** (122) : 39-44.
57. PILET (Ch.), ANDRE (G.), TOMA (B.). L'épreuve à l'antigène tamponné et le diagnostic sérologique de la brucellose. Paris, O.I.E., 1973. (Rapport n° 116 - 41e session).
58. PILET (Ch.), TOMA (B.), ANDRE (G.). Diagnostic sérologique de la brucellose par l'épreuve à l'antigène tamponné (E.A.T.) ou Card Test. *Cah. Méd. vét.*, 1972, **1** : 1-16.

59. RAYBOULD (T. J. G.), CHAUTLER (S.). Serological differentiation between infected and vaccinated cattle by visual and quantitative immunofluorescence using *Brucella abortus* antigen coupled sepharose beads. *J. Immunol Meth.*, 1979, **30** : 37-46.
60. REDDIN (J. L.), ANDERSON (R. S.). Significance of 7 S and 19 S globulin *Brucella* agglutinins in human brucellosis. *New Engl. J. Med.*, 1965, **272** : 1263-1268.
61. RENOUX (G.). Etalonnage de l'antigène coloré pour l'épreuve de l'anneau sur le lait. *Bull. Off. int. Epizoot.*, 1952, **37** : 542-551.
62. RENOUX (G.). Etalonnage des antigènes pour le diagnostic biologique de la brucellose. Proc. 8ème Congrès int. Standardisation microb., Berne, 1962. 176 p.
63. RENOUX (G.), GAUMONT (R.). Méthodes de diagnostic biologique des brucelloses animales. *Annls Nutr. Aliment.*, 1966, **20** (1).
64. RENOUX (G.), PLOMMET (M.), PHILIPPON (A.). Microréactions d'agglutination et de fixation du complément pour le diagnostic des brucelloses. *Annls Rech. vét.*, 1971, **2** : 263-269.
65. RENOUX (M.). A passive hemagglutination test for the detection of *Brucella* infection. *J. Immunol Meth.*, 1980, **32** : 349-355.
66. RENOUX (M.), DUBOIS (M.), RENOUX (G.). Hémagglutination après couplage par le chrome d'un glycoprotéine bactérienne. *Annls Inst. Pasteur, Paris*, 1968, **115** : 978.
67. RENOUX (M.), RENOUX (G.), PLOMMET (M.), PHILIPPON (A.). Brucellose bovine expérimentale. X. Hemagglutination passive après infection conjonctivale par *Brucella abortus*. *Annls Rech. vét.*, 1972, **3** (1) : 5-12.
68. ROEPKE (H.), STILES (F.). Potential efficiency of milk Ring Test for detection of brucellosis. *Am. J. vet. Res.*, 1970, **31** (12) : 2145-2149.
69. ROSE (J. E.), ROEPKE (M. H.). An acidified antigen for detection of non specific reactions in the plate agglutination test for bovine brucellosis. *Am. J. vet. Res.*, 1957, **18** : 550-555.
70. ROUX (J.), SERRE (A.). Application des méthodes de diffusion en gélose à la sérologie de la brucellose humaine. *Path. Biol.*, 1963, **11** (7-8) : 480-483.
71. RUCKERBAUER (G. M.). An hemolysis-in-gel test for bovine brucellosis. *Dev. Biol. Standard*, 1984, **56** : 513-520.
72. SCHEIBNER (E.), LEUCHTE (H. J.). Standardisierung des Rose Bengal testes. *Zbl. Vet. Med.*, 1977, **24** : 250-257.
73. SERRE (A.), ARIE (A. M.). Etude de quelques particularités des anticorps bloquants dans la brucellose humaine. *Path. Biol.*, 1972, **20** (11-12) : 551-557.
74. STROHL (A.). Dépistage de la brucellose, l'antigène Rose Bengale un progrès pour l'avenir. *Revue méd. vét.*, 1974, **125** : 1453-1467.
75. TOMA (B.), ANDRE (G.), PILET (Ch.). Diagnostic sérologique de l'infection brucellique de l'homme par l'épreuve à l'antigène tamponné. *Méd. Mal. infect.*, 1972, **2** (1) : 25-32.
76. VALETTE (L.). Applications de la méthode cinétique à la réaction de fixation du complément automatisée dans la brucellose. *Revue Hyg. Méd. soc.*, 1968, **16** : 443-440.
77. VALETTE (L.). Les antigènes brucelliques pour agglutination. Symp. Séries Immunobiol. Stand. Karger, 1970, **12** : 299-306.
78. VARGUES (R.), VALETTE (L.), RIVE (M.), STUDIEVIC (C.). Automatisation du dépistage de la brucellose bovine par séro-agglutination ou par fixation du complément avec l'auto-analyseur Technicon. Symp. Séries Immunobiol. Stand. Karger, 1970, **12** : 382-388.
79. WEBB (R. F.), QINN (C. A.), COCKRAM (F. A.), HUSBAND (A. J.). Evaluation of procedures for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. *Aust. vet. J.*, 1980, **56** : 172-175.
80. WHITE (P. G.), WILSON (J. B.). Differentiation of smooth and non smooth colonies of *Brucella*. *J. Bact.*, 1951, **61** : 239.

Vaccination

81. COTTON (W. E.), BUCK (J. M.), SMITH (H. E.). Studies of five *Brucella abortus* strains as immunizing agent against Bang's disease. *J. Am. vet. Med. Ass.*, 1934, **85** : 232-247.
82. DHENNIN (L.). Résultats de l'étude comparée de sept vaccins antibrucelliques. *Bull. Acad. vét.*, 1973, **46** : 171-190.
83. DUFOUR (B.). Situation épidémiologique de la brucellose bovine en France en 1983. *Bull. Epid. Santé anim.*, 1984, **5** : 13-20.

84. ELBERG (S. S.). Caprine immunization against brucellosis. A summary of experiments on the isolation, properties and behaviour of a vaccine strain. *Bull. Hlth Wld Org.*, 1958, **19** : 711-724.
85. JOUBERT (L.), VALETTE (L.). Le vaccin antibrucellique inactivé H 38 dans la prophylaxie de la brucellose des ruminants. *Bull. Soc. Sci. vét. méd. comp.*, 1969, **71** : 65-92.
86. MAC DIARMID (A.). Immunisation contre la brucellose au moyen d'une souche ne déterminant pas la formation d'agglutinines. *Annl. Inst. Pasteur, Paris*, 1962, **102** : 792-800.
87. MAC EWEN (A. D.), SAMUEL (J.). *Brucella abortus* : heat stable protective antigen revealed by adjuvant and present in a rough variant, strain 45/20 : immunisation experiments on guinea-pigs. *Vet. Rec.*, 1955, **67** : 546-548.
88. MAC KEON (F. W.). A recent trial comparing two 45/20 adjuvant *Brucella* vaccines. *Dev. Biol. Standard*, 1976, **31** : 343-350.
89. NICOLETTI (P.), JONES (L. M.), BERMAN (D. T.). Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *J. Am. vet. Med. Ass.*, 1978, **173** : 1450-1456.
90. PLOMMET (M.), FENSTERBANK (R.). La vaccination antibrucellique des bovins avec la souche B 19 administrée par voie conjonctivale. *Bull. G.T.V.*, 1979, **6** : 3-13.
91. PLOMMET (M.), RENOUX (G.), PHILIPPON (A.), LORENZ (C.), GESTIN (J.). Brucellose bovine expérimentale. Comparaison de l'efficacité des bovins B 19 et H 38. *Annl. Rech. vét.*, 1970, **1** : 189-201.
92. RENOUX (G.), PHILIPPON (A.), PLOMMET (M.). Vaccination antibrucellique des vaches en milieu infecté avec le vaccin inactivé H 38. *Recl Méd. vét.*, 1969, **145** : 253-255.
93. THILLEROT (M.), CHARLES (J. M.). Utilisation du vaccin H 38 dans la prophylaxie des brucelloses bovine et ovine en France. *Dev. Biol. Standard.*, 1984, **56** : 689-696.
94. THIMM (B. M.). *Brucellosis distribution in man, domestic and wild animals*. Berlin, Springer Verlag, 1982.