

COMMUNICATIONS

La réaction du « culot » ou « Kuppenreaktion » dans le diagnostic de la Brucellose bovine

par P. ROSSI, F. TRIOZON, Y. DUTILLÔY et Th. GOGUILLOT

En 1939, FLEISCHHAUER et CANIC (1) décrivent une méthode dite du « culot » (Kuppenreaktion) permettant de contrôler l'épreuve de l'anneau Abortus-Bang-Ringprobe (Ring-Test des Anglo-Saxons).

La technique est simple : dans un tube à hémolyse, à 1 cm³ du lait à examiner, est ajoutée une goutte d'antigène coloré : le tube est immédiatement centrifugé huit minutes à 2.500 tours. A la partie supérieure, se forme un anneau crémeux, coloré ou non, tandis que le lait reprend sa couleur naturelle ou garde la teinte de l'antigène. En même temps, au fond du tube, se dépose un « culot » de couleur, de dimensions et d'aspect différents, selon qu'il s'agit d'un lait brucellic ou d'un lait normal : Pour apprécier les caractères de ce « culot », on renverse brusquement le tube de façon à le vider de son contenu liquide et on le place, fond en haut, sur un râtelier.

Les auteurs ont minutieusement décrit les divers aspects que peuvent prendre ces « culots » et les ont classés en quatre catégories, comprenant chacune plusieurs degrés (au total 10).

I. — Réactions fortement positives :

- a) Au milieu du culot, petits grains bleu foncé (a) halo laiteux.
- b) Faible dépôt, bleu clair, pas toujours très arrondi, halo laiteux.
- c) Dépôt bleu clair, plus ou moins rond, parfois halo laiteux peu étendu, Dans les environs du sédiment, quelques petits grains bleu foncé.

II. — Réactions positives moyennement fortes :

- a) Dépôt bleu, cependant pas aussi fortement coloré que dans la catégorie III suivante. La marge montre des fissures et de petits agglutinats.
- b) Dépôt bleu, cependant pas aussi fortement coloré que dans la catégorie III, mais d'une dimension un peu plus grande que dans II a, avec un noyau foncé, à peu près perceptible, mais pas très net. La marge ne montre ni fissure, ni agglomérats.

(a) FLEISCHHAUER et CANIC emploient un antigène à l'hématoxyline.

III. — *Réactions positives faibles :*

- a) Dépôt bleu foncé bien marqué aussi, dans la plupart des cas, noyau bleu foncé central.
- b) Dépôt encore plus foncé avec une marge, moins bien formée, mais encore nette. Après 10-15 minutes, faible extension dans le fond du tube, avec au centre, une zone un peu plus foncée.
- c) Dépôt encore plus important et plus étendu et pas toujours rond.

IV. — *Réactions douteuses :*

- a) Dépôt qui, dans les 2 minutes après le renversement des tubes, s'écoule comme dans les réactions IV b et IV c, mais qui dans les 3-10 minutes ultérieures s'étend sur tout le fond du tube avec une marge encore visible.

Réactions négatives :

- b) et c) Dépôt avec centre bleu foncé et bord très étroit, clair, s'étendant immédiatement ou dans les 2 minutes suivant le renversement à tout le fond du tube.

Dès nos premières études sur l'A.B.R. (2), la formation d'un sédiment, d'une coloration inversement proportionnelle à celle de l'anneau crémeux, ne nous avait pas échappé.

Sans renverser le tube, nous examinions ce culot toutes les fois où l'anneau n'entrait pas d'une façon formelle dans le cadre des réactions + + + et + + + +.

Depuis qu'au cours de l'année 1953 nous avons eu connaissance des publications de FLEISCHHAUER et CANIC, nous avons contrôlé la nouvelle méthode sur plus de 2.000 laits, laits de mélange, systématiquement soumis à la lacto-agglutination ou laits individuels, dont l'état d'infection des vaches productrices était établi par le S.A.W.

Nous avons, de suite, été frappés par l'impossibilité d'appliquer une notation aussi subtile que celle proposée par les auteurs allemands, qui, pour faciliter la compréhension de leur description, avaient pourtant annexé, à leur travail, plusieurs schémas.

A notre avis, ne sont appréciables même pour des personnes très entraînées que les quatre premiers types, c'est-à-dire les seules réactions caractérisées par un sédiment, blanc ou coloré (a) peu important, avec présence au centre ou à la périphérie de petits agglutinats colorés, ou avec présence d'une marge périphérique nette plus ou moins fissurée et dans tous les cas, présence autour du sédiment d'un halo laiteux.

Ainsi que nous l'avons constaté avec les laits individuels provenant de vaches, dont nous était connu le degré exact d'infec-

(a) Nous employons l'antigène au phényltétrazolium Mérieux qui, lors d'épreuves comparatives, nous a donné des réponses identiques à celles de l'antigène à l'hématoxyline Vet-Orga.

tion, toutes les autres réactions pouvant être rangées dans les catégories II b, III et IV des Allemands, sont d'une lecture trop délicate et trop sujette à erreur : Nous estimons, du point de vue pratique, pouvoir considérer comme négatives toutes ces réactions batardes, à moins qu'elles n'accompagnent un anneau réellement positif.

Laits individuels.

Les laits des vaches ayant eu un S.A.W. au moins égal à 1/80 + + + ont tous donné une K.R. (a) positive.

Ceux correspondant à un S.A.W. de 1/40 + + + ont sauf dans 4 pour cent des cas, été régulièrement positifs.

Ceux correspondant à 1/20 + + + ont été positifs dans 6 pour cent des cas.

La réaction du « culot » concorde le plus souvent avec celle de l'anneau.

Cependant, elle a été négative dans 9 pour cent des cas, malgré un anneau positif, et dans 3 pour cent des cas, malgré un A.B.R. et un L.D. positifs.

Le pourcentage des « culots » positifs avec lacto-séro-agglutination négative est à peu près du même ordre que celui que nous avons signalé à propos de l'A.B.R. (3).

Les « culots », les moins colorés, coïncident en général avec les L.D. positifs, mais 10 pour cent des « culots » blancs correspondent à L.D. négatif.

Laits de mélange.

La réaction du « culot » négative dans 8 pour cent des cas où A.B.R. et L.D. étaient positifs, a été nette dans 10 pour cent des cas avec L.D. négatif, mais alors l'anneau était manifeste. Elle n'a coïncidé avec un anneau négatif que dans 3 pour cent des épreuves.

*
**

La dose d'antigène ajoutée joue un grand rôle. Les anticorps ne peuvent, en général, agglutiner qu'une partie des *Brucella* mises en contact avec eux; toute augmentation du nombre des germes microbiens se traduit par un dépôt plus abondant, plus marqué, masquant les caractères réels de la réaction.

C'est ainsi, que tel lait présentant, avec une seule goutte d'antigène, un culot nettement positif aura, avec deux gouttes, une

(a) Pour plus de facilité, nous désignerons sous les lettres K.R. (Kuppenreaktion) la réaction du culot, de L.D. (Lacto-diagnostie) la lacto-séro-agglutination.

réaction difficile à classer ou ayant même l'aspect des réactions franchement négatives.

Les tubes doivent être renversés peu après la centrifugation, sinon au bout de quelques minutes le « culot » reste moins bien adhérent au fond.

En procédant à des dilutions, le « culot » nous a paru moins sensible que l'anneau.

Il est très influençable par la température qui modifie sans doute les qualités de la crème. Parfois, à la sortie du frigo, celle-ci tout en entraînant avec elle un nombre d'agglutinats capable de donner un anneau net, en délaisse la majeure partie qui se déposera et formera un « culot » négatif. Après maintien de 15-20 minutes à la température ambiante, le même lait aura un sédiment positif.

La réaction du « culot » peut donc être considérée comme un élément de contrôle de l'épreuve de l'anneau et avoir, si elle est positive, une possibilité d'application pratique lorsque l'interprétation d'un anneau, à la limite de positivité, se révèle délicate.

Sa moindre sensibilité lui enlève toute valeur en cas de négativité.

(Laboratoire départemental de Saône-et-Loire.)

BIBLIOGRAPHIE

1. FLEISCHHAUER (G.) et CANIC (R.). — Ueber weitere Versuche mit der Abortus-Bang-Ringprobe (A.B.R.) zur Untersuchung von Milchproben auf Abortus Bang. *Berl. und Münch. Tierarz. Woch.*, 1929, p. 238-246.
 2. ROSSI (P.) et DUTILLOY (Y.). — L'épreuve de l'anneau Abortus-Bang-Ringprobe (A.B.R.) ou Ring-Test (R.T.) dans la Brucellose bovine. *Bull. Acad. Vét. France*, novembre 1931, tome XXIX, p. 485-493.
 3. ROSSI (P.). — Ring-Test (R.T.) ou épreuve de l'anneau Abortus-Bang-Ringprobe (A.B.R.) dans la brucellose bovine. *Rec. Méd. Vét.*, mai 1932, tome CXXVIII, p. 285-296.
-