

L'épreuve de l'anneau (Abortus-Bang-Ringprobe ou Ring-Test) avec les laits chauffés

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

La présence dans le lait d'agglutinines spécifiques a suggéré plusieurs méthodes de diagnostic de la Brucellose bovine. La plus répandue et la plus fidèle est incontestablement l'épreuve de l'anneau (A.B.R. des Allemands, Ring-Test des Anglo-Saxons).

Avec d'autres auteurs, nous avons constaté que le chauffage du lait, pendant 30 minutes à 65°, ne déterminait aucune perturbation appréciable de cette épreuve, qui peut donc être effectuée après la pasteurisation basse (1). Mais, pour l'assainissement du lait, celle-ci est de plus en plus délaissée au profit d'autres techniques, pasteurisation haute, stassanisation, etc., recourant à l'action très brève d'une température de 75-80° C.

Or, la température de 70-72° et a *fortiori* celle de 75-80°, entraînent de profonds changements de la constitution physique des globules gras, supprimant le pouvoir ascensionnel spontané de la crème, base de la réaction de l'anneau.

L'impossibilité d'utiliser dès lors le Ring-Test a été soulignée dans maints travaux, notamment celui de SCHEINER qui a vu que, « sous l'influence d'un chauffage élevé (72° C), l'A.B.R. n'est plus positif avec des laits brucelliques, bien que le titre d'agglutination (lacto-diagnostic) allant jusqu'à 1/40 + + +, 1/80 + + + et 1/160 + puisse persister. Cela repose exclusivement sur la mauvaise capacité d'ascension de la crème des laits, aussi fortement chauffés ».

Ces conclusions, valables pour les procédés utilisant la montée spontanée de la crème, concernent-elles aussi ceux basés sur la centrifugation ?

C'est ce que nous avons recherché au cours de très nombreuses expériences portant sur plus de 125 laits de mélange et presque autant de laits individuels, tous brucelliques. Les échantillons étaient répartis à raison de 1 cm³ dans des tubes à hémolyse avant d'être placés dans un bain-marie réglé de façon à éviter tout écart supérieur à 0°3. L'équilibre thermique demandant

environ une minute, le chronomètre n'était déclenché qu'au moment où le thermomètre, plongé dans un des tubes, atteignait la température désirée.

Après refroidissement immédiat à la glacière (a), chaque tube recevait une goutte d'antigène coloré, puis, après incubation de 10 minutes, était centrifugé 2-3 minutes à 2.500 tours.

Nous avons ainsi étudié l'influence :

- 1° de la durée et du degré du chauffage;
- 2° de la teneur en matière grasse;
- 3° des caractères individuels des divers échantillons de lait;
- 4° de la teneur en agglutinines.

I. — INFLUENCE DE LA DURÉE ET DU DEGRÉ DE CHAUFFAGE

68° C. — Au bout de 30 minutes, rares sont les échantillons brucelliques qui ont perdu la capacité de former l'anneau.

70° C. — Maintenus à cette température pendant 30 secondes, 1, 2 ou 3 minutes, presque tous les laits ont donné un résultat positif.

72-73° C :

30 secondes, aucune modification appréciable;

1 minute, rares échantillons négativés;

2 minutes, 5-10 pour cent des échantillons négativés;

3 minutes, 20 pour cent des échantillons négativés.

75° C. — Au bout d'une minute, 95 pour cent des réactions sont négativés. Deux échantillons étaient intacts au bout de 5 minutes.

77° C. — Un seul échantillon a résisté 30 secondes.

Cette disparition de la réaction de l'anneau dépend-elle uniquement des modifications de la matière grasse ou n'est-elle pas subordonnée, en partie tout au moins, à la destruction des agglutinines ?

La première hypothèse semble prévaloir. En effet, l'addition de quelques gouttes de crème neutre crue « réactive » les laits maintenus 3 minutes à 72° ou 2 minutes à 74° et fait reparaitre l'anneau positif.

Dans les gammes de dilution, après addition de crème neutre crue, les différences entre laits crus et chauffés sont minimales.

Enfin, les laits brucelliques à lacto-diagnostic élevé continuent

(a) Rappelons que WEIGMANN a montré que l'aptitude d'un lait à laisser monter la crème après chauffage dépend non seulement du degré de température atteint, mais aussi de la rapidité de refroidissement.

à donner une agglutination positive, alors que le Ring-Test s'est négativé.

D'ailleurs, les agglutinines semblent mieux protégées dans le lait que dans le sérum sanguin. En portant simultanément aux mêmes températures, d'une part 40 laits individuels et, d'autre part, les sérums sanguins correspondants dont le S.A.W. atteignait $1/320 + + +$, nous avons vu disparaître l'agglutination dans les sérums, alors que la plupart des laits pouvaient être « réactivés » par la crème neutre.

Nous avons maintenu 2 minutes à 72° des dilutions de sérums brucelliques dans du lait neutre. Un certain nombre de ces gammes (40 pour cent) a donné un anneau négatif; elles ont toutes été réactivées par la crème fraîche.

Par contre, les dilutions des mêmes sérums dans l'eau salée ont mal supporté le chauffage. N'ont donné un S.A.W. positif, avec d'ailleurs un phénomène de zone dans les deux premiers tubes qui se sont plus ou moins coagulés, les seuls sérums ayant un très haut pouvoir agglutinant $1/640$ et $1/1280$. Le chauffage à 72° C pendant 3 minutes a négativé toutes les dilutions de sérum.

II. — INFLUENCE DE LA RICHESSE EN MATIÈRE GRASSE

Les divergences, enregistrées dans nos essais initiaux et ne pouvant être attribuées qu'à la richesse anormale en matières grasses des échantillons prélevés dans les bidons de ramassage ou directement à la mamelle, nous ont amené à étudier ce deuxième point.

Avec une teneur de 4 pour cent environ, les résultats sont ceux indiqués au chapitre précédent.

Avec une teneur de 10 pour cent et au-delà, très fréquemment le chauffage à 75° , pendant 2 et même 3 minutes, n'est pas suivi de la disparition de l'anneau.

A condition que sa masse soumise au chauffage soit relativement importante (2 cm^3), une crème neutre portée 2 minutes à 75° a pu, après addition à un lait brucellique, provoquer l'anneau : même observation avec une crème brucellique ajoutée à un lait neutre.

III. — INFLUENCE DES CARACTÈRES INDIVIDUELS DES LAITS

N'a pas manqué de se manifester au cours de nos expériences la variabilité bien connue des caractères individuels des laits.

Toutes choses étant égales, certains laits sont altérés dès 68°. D'autres résistent 5 minutes à 72-73° C. Deux, nos numéros 28 et 40, ont impunément supporté le maintien de 5 minutes à 73° et de 30 secondes à 77°.

Cette résistance de ces deux laits, décelable aussi bien avec une teneur de 10 pour cent qu'avec un taux de 4 pour cent de matières grasses, tenait, semble-t-il, à la seule qualité de leur crème.

IV. — INFLUENCE DE LA TENEUR EN AGGLUTININES

Ce facteur n'a pas paru jouer un rôle appréciable. Les laits ayant un L.D. élevé, 1/140 + + +, 1/80 + +, n'ont pas sensiblement plus résisté que ceux ayant un L.D., faible 1/10 + + +, 1/20 + + + ou même négatif.

De nos expériences, nous pouvons conclure que même avec la méthode de centrifugation, le Ring-Test devient très problématique, dès que le chauffage du lait atteint 72° C.

Au-dessous de 74°, si le chauffage n'a pas été trop prolongé, l'addition de crème neutre crue « réactive » la réaction dont la disparition tient à la modification physique des globules gras et non à la destruction des agglutinines brucelliques. Celles-ci semblent particulièrement bien protégées dans le lait puisqu'elle y supportent des températures les détruisant dans les dilutions de sérum sanguin.

(Laboratoire départemental de Saône-et-Loire.)

BIBLIOGRAPHIE

1. P. ROSSL. — Ring-Test (R.-T.) ou épreuve de l'anneau Abortus-Bang-Ringprobe (A.B.R.), dans la brucellose bovine. *Recueil Méd. Vét.*, t. CXXVIII, 1952, pp. 285-296.
2. SCHEINER. — Wann verschwinden die Abortus Bang Ringprobe und die Brucella Agglutinine in hinlänglich erhitzten Milchproben. *Der Lebensmittel Tierarzt*, t. IV, mars 1953, pp. 53-56.