

BRUCELLOSE CONGÉNITALE DU COBAYE

Nicole BOSSERAY et R. DIAZ

Station de Pathologie de la Reproduction,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A.,
Nouzilly B. P. 1, 37380 Monnaie

RÉSUMÉ

L'inoculation expérimentale par *Brucella abortus*, souche 544, de 14 cobayes femelles à différents stades de gestation a permis d'étudier :

— l'évolution des gestations en fonction de l'infection ;

— la transmission congénitale de l'infection, et ses conséquences sur les réponses sérologiques (agglutination, fixation du complément et épreuve au Rose bengale) et sur l'hypermensibilité retardée des petits.

Les examens bactériologiques effectués à l'autopsie sur les mères, 35 jours après l'inoculation, ne montrent pas de différences d'intensité de l'infection. Cependant cinq femelles ont avorté, une a mis bas deux fœtus morts et deux petits vivants. Sept mères ont mis bas normalement, l'une de ces dernières a été saillie, une nouvelle fois aussitôt après le part ; elle est, ainsi qu'une autre femelle, encore gestante au moment de l'autopsie.

Les examens bactériologiques et immunologiques effectués sur les 24 petits nés vivants, à l'âge de 2 mois, révèlent que : les petits de deux portées sont indemnes ; les petits de trois portées sont infectés ; sur les neuf petits des trois autres portées, cinq sont bactériologiquement positifs. On note une bonne relation entre les résultats des examens bactériologiques et immunologiques, sauf dans le dernier groupe de petits, où on a observé un cas de brucellose sérologiquement inapparente et deux cas avec réponses très faibles.

On peut donc faire un rapprochement entre la brucellose congénitale du veau et celle du cobaye. Ce dernier pourrait servir de « modèle » pour l'étude de la transmission congénitale de cette infection.

INTRODUCTION

La persistance de l'infection brucellique chez les animaux nés de mères infectées est un fait déjà observé pour différentes espèces animales (RENOUX, ROMAN et QUATREFAGES, 1950 ; RENOUX, 1957 ; PRICHARD *et al.*, 1971). Récemment, PLOMET *et al.* (1973) ont démontré que des génisses nées de mères brucelliques, préservées de toute contamination extérieure, peuvent rester sérologiquement négatives jusqu'à la fin de la première gestation, mais être néanmoins infectées, comme l'autopsie *post partum* permet de le montrer. Ces observations ne sont pas classiquement admises par certains auteurs, qui continuent à préconiser la reconstitution de troupeaux

indemnes à partir des veaux nés de mères infectées pour l'éradication de la maladie.

Cette étude de la brucellose congénitale, portant sur 14 mères cobayes infectées expérimentalement en cours de gestation, confirme la possibilité de transmission de cette infection d'une génération à la suivante. Cette espèce peut donc servir pour l'étude des mécanismes fondamentaux de cette infection.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Au cours d'une recherche sur l'activité vaccinale de préparations antigéniques de *Brucella*, 14 cobayes femelles (souche Pirbright, sujets Durkin-Hartley, albinos) ont été saillies accidentellement à un moment indéterminé par rapport à l'épreuve infectante ; celle-ci consistait en l'inoculation intramusculaire de 5×10^6 *Brucella abortus*, souche 544.

Quelques femelles ont avorté ; d'autres ont mis bas des petits vivants, laissés avec leur mère pendant 1 à 2 semaines et gardés dans des cages séparées pour éviter les contaminations entre portées. Une femelle a mis bas 20 jours après l'inoculation, puis a été aussitôt saillie. A la fin de l'expérience, 35 jours après l'inoculation, cette dernière femelle et une autre sont encore gestantes. A ce moment, toutes les mères sont sacrifiées, puis autopsiées pour la recherche des *Brucella* dans les ganglions (cervicaux, sous-maxillaires, axillaires et cruraux), l'utérus et la rate, cet organe ayant servi à la numération des *Brucella*. Les cultures sont effectuées sur milieu Trypticase Soy agar B. D. Mérieux (TSA) et incubées pendant 5 jours en atmosphère à 10 p. 100 de gaz carbonique.

On recherche l'infection brucellique sur les petits à l'âge de 2 mois, c'est-à-dire au moins 1 mois 1/2 après la séparation d'avec leur mère par :

— épreuve cutanée de l'hypersensibilité retardée, avec un allergène protéique ; des études antérieures ont montré que l'injection de cet allergène ne provoque pas une élévation des titres en anticorps sur les cobayes normaux non sensibilisés (JONES, DIAZ et TAYLOR, 1973) ;

— étude sérologique, 48 heures plus tard, par les tests d'agglutination standard, d'agglutination de l'antigène au Rose bengale et de fixation du complément ;

— recherche des *Brucella* par culture comme ci-dessus, utérus excepté.

RÉSULTATS

I. — Évolution des gestations et niveau d'infection des mères (tabl. 1)

Sur 14 mères cobayes, on observe :

5 avortements donnant 11 fœtus morts à des stades de développement variables, même au sein d'une même portée ;

1 femelle donnant naissance à 4 petits, 2 vivants et 2 morts, ces derniers à un stade de développement moins avancé ;

7 femelles donnant naissance à 22 petits vivants de taille et d'apparence normales.

Deux femelles ont été autopsiées gestantes. La première portait 1 petit presque à terme et bactériologiquement négatif ; la seconde, saillie aussitôt après la mise bas de 3 petits vivants, portait 6 fœtus de 14 jours bactériologiquement infectés.

Les cultures après autopsie révèlent une infection importante des mères : tous les ganglions et tous les utérusensemencés sont positifs. L'intensité de l'infection, mesurée par le nombre de *Brucella* dans la rate, est en général élevée. On ne note pas de relation entre cette intensité et l'évolution des gestations (avortements ou parts normaux).

TABLEAU I

*Degré d'infection des mères au moment de l'autopsie
et effet de l'infection sur la viabilité des petits à la naissance*

Le contact infectant entre la mère et les petits a lieu *in utero*
de l'inoculation à la parturition et, après la naissance,
de celle-ci jusqu'au sacrifice des mères (35 jours après l'inoculation)

*Degree of infection of the mother guinea-pigs at autopsy
and effect of the infection on the viability of the young at birth*

Infectious contact between mother and young occurred *in utero*
from challenge to parturition and, after birth, until autopsy (35 days after challenge)

Mères				Petits			
N°	Nbre <i>Brucella</i> par rate	Ganglions infectés/total	Utérus (infection)	Nés morts	Nés vivants	Durée du contact infectant par la mère	
						<i>in utero</i> (j)	<i>post partum</i> (j)
20	2 600 000	7/7		1 (1)		35	
18	468 000	10/10	+	2		29	
24	376 000	6/6	+	2		19	
25	808 000	7/7	+	3		18	
31	1 113 000	6/6	+	2		13	
32	187 000	7/7	+	2		22	
29	785 000	12/12	+		4	22	13
37	3 880 000	7/7	+	2	2	23	12
19	2 000 000	7/7	+		2	26	9
22	8 470 000	7/7	+		3	29	6
23	2 360 000	9/9	+		4	30	5
27	1 094 000	7/7	+		3	28	7
28	1 210 000	10/10	+		3	28	7
38	2 440 000	10/10		6 (1)	3	21	14
						14	
N°	Number of <i>Brucella</i> per spleen	Lymph nodes infected/total	Uterus (infected)	Still-born	Alive	Duration of infectious contact with mothers	
<i>Mothers</i>				<i>Young</i>			

(1) Foetus prélevés par césarienne.

(1) *Delivered by caesarian operation.*

2. — Taux d'infection des cobayes nés vivants de mères infectées (tabl. 2)

Sur 24 petits, on note :

• Les 6 petits issus des femelles n°s 29 et 37 sont totalement négatifs aux épreuves sérologiques, aux examens bactériologiques et aux tests d'hypersensibilité retardée,

• Les 9 petits issus des femelles n^{os} 27, 28, 38 sont positifs aux examens bactériologiques et à toutes les réactions sérologiques, avec des titres d'anticorps élevés : moyenne de 1/320 en agglutination standard et résultats souvent supérieurs à 1/320 en fixation du complément. Les réactions d'hypersensibilité retardée sont intenses et de nombreuses *Brucella* sont isolées de tous les prélèvements.

TABLEAU 2

Résultats des examens bactériologiques et immunologiques des petits, à l'âge de 2 mois

Les cobayes sont sacrifiés
et le sérum prélevé 48 heures après le test cutané d'hypersensibilité retardée
Les titres sérologiques sont exprimés par l'inverse de la dernière dilution positive

Immunological and bacteriological studies on young at 2 months of age

Guinea-pigs are bled and autopsied 48 hours after the skin-test was performed.
Serological titers are expressed as the reciprocal of the highest positive dilution

N ^o Mères	N ^o Petits	Sexe	Nombre <i>Brucella</i> par rate	Ganglions infectés/total	Test cutané	Aggl. standard	Rose bengale	Fixation du complément
29	206	M	0	0/6	—	—	—	0
	207	F	0	0/8	—	—	—	0
	208	F	0	0/12	—	—	—	0
	209	F	0	0/8	—	—	—	0
37	219	M	0	0/9	—	—	—	0
	221	M	0	0/9	—	—	—	0
19	214	F	0	0/10	—	—	—	0
	216	M	173 000	12/12	+	2 560	16	> 320
22	215	M	300	7/12	—	—	—	5
	217	F	1 500	9/9	—	—	—	20
	218	F	0	0/7	—	—	—	0
23	210	M	14	5/9	+	20	—	40
	211	M	93	1/9	—	—	—	0
	212	F	0	0/8	—	—	—	0
	213	F	0	0/10	—	—	—	0
27	200	M	22 500	11/12	+	160	1	> 320
	201	M	1 200	3/10	+	20	1	40
	202	M	8 200	9/12	+	160	4	> 320
28	203	M	160 000	11/11	+	80	2	320
	204	M	190 000	10/10	+	160	8	160
	205	M	46 000	11/11	+	1 280	32	> 320
38	220	F	19 000	10/10	+	5 120	16	> 320
	222	M	16 000	9/9	+	640	16	> 320
	223	M	288 000	10/10	+	160	8	160
<i>Mothers N^o</i>	<i>Young N^o</i>	<i>Sex</i>	<i>Number of Brucella per spleen</i>	<i>Lymph nodes infected/total</i>	<i>Skin test</i>	<i>Standard agglut.</i>	<i>Rose bengale plate test</i>	<i>Complement fixation</i>

• Les 9 petits issus des femelles n^{os} 19, 22, 23 donnent des résultats divergents aux examens bactériologiques : au sein d'une même portée, certains petits sont indemnes, alors que d'autres sont infectés. Les 5 résultats positifs en bactériologie s'accompagnent de réponses immunitaires variables, faibles ou négatives. Le n^o 216 est positif à tous les tests, d'autres ne répondent qu'à un ou plusieurs tests.

En résumé, pour ces trois groupes, sur 14 petits bactériologiquement infectés, on observe une brucellose totalement inapparente (n^o 211) et deux infections répondant très faiblement aux tests immunologiques (n^{os} 215 et 217).

DISCUSSION

Cette observation fortuite de la brucellose congénitale du cobaye nous permet de confirmer les observations de RENOUX, ROMAN et QUATREFAGES (1950) et montre que cette espèce se comporte à cet égard comme la chèvre (RENOUX, 1957), le vison (PRICHARD *et al.*, 1971) et la vache (PLOMMET *et al.*, 1973).

Une femelle cobaye gestante, infectée expérimentalement, peut avorter ou mettre bas des petits vivants, sains ou infectés. Au sein d'une même portée, quelques petits seulement peuvent être infectés. La brucellose est sérologiquement inapparente sur quelques-uns d'entre eux.

La transmission de l'infection peut avoir lieu *in utero* ou après le part, par contact entre la mère et les petits. Nous avons relevé dans le tableau 1 la durée du contact entre les petits et leur mère pendant ces deux périodes. Ces durées du contact infectant, en l'absence de renseignements sur les voies d'excrétion *post partum* des *Brucella* (colostrum, lait, mucus vaginal ?), ne permettent pas de présumer du moment de la contamination. Les observations suivantes plaident en faveur de la contamination *in utero* :

1^o Les fœtus et les enveloppes de la femelle n^o 38 sacrifiée au 14^e jour de la deuxième gestation étaient déjà infectés.

2^o Dans la même portée, des petits peuvent être indemnes et d'autres infectés, ce qui s'expliquerait difficilement dans le cas d'une contamination *post partum*, tous les petits ayant une probabilité égale de s'infecter. Par contre, les fœtus de cobaye se développant dans des enveloppes séparées (GHAEMOLSABAHI, SANANES et PANIGEL, 1968), une lésion brucellique circonscrite de l'utérus peut ne toucher qu'un seul fœtus.

3^o Les utérus examinés 1 à 2 semaines après le part sont, dans tous les cas, infectés. Cette situation était, selon toute vraisemblance, antérieure au part.

Ces deux constatations (contamination *in utero*, infection sérologiquement inapparente sur certains petits) nous font penser que le cobaye pourrait servir de modèle expérimental pour l'étude de la transmission congénitale de la Brucellose ; le fait que les fœtus se développent séparément *in utero* avec, pour chacun une probabilité indépendante de s'infecter, augmente l'intérêt de ce modèle.

SUMMARY

CONGENITAL BRUCELLOSIS IN GUINEA-PIGS

Fourteen guinea-pigs challenged with *Brucella abortus* 544 during pregnancy were examined for :

— effect of infection on pregnancy ;

— congenital transmission of infection and its immunological expression (agglutination, complement fixation, Rose Bengal plate-test, and delayed hypersensitivity skin-test).

Although the level of infection of the mothers 35 days after challenge was similar, the effect on pregnancy differed. Five mothers aborted, one littered both still-born and live offspring and seven had normal parturition. One of the latter was matted again just after parturition and she and one other female were still pregnant at autopsy.

Bacteriological and immunological studies made on the 24 young at the age of two months showed that young from two litters were free of infection, young from three litters were all infected and some but not all of the young from three other litters were infected.

In general, there was association between bacteriological and immunological examination. Although one young infected guinea-pig had no serological response and two other infected young had a low complement fixation titre only.

These observations suggest that guinea-pig may be used as experimental model to study congenital transmission of Brucellosis.

РЕЗЮМЕ

Конгенитальный бруцеллёз морской свинки.

Опытное заражение *Brucella abortus*, штаммом 544, 14 самок морских свинок в разных периодах стельности, позволило изучить :

— Влияние инфекции на эволюцию стельности;

— Конгенитальную передачу инфекции, и отражение на серологические реакции (агглютинацию, фиксацию комплемента и реакцию на Розовый Бенгаль), и на задерженную повышенную чувствительность малышей.

Бактериологический анализ, проведенный после вскрытия маток, на 35-ый день после инокуляции, не выявил разницы в интенсивности инфекции, однако пять самок выкинули зародышей; одна дала двух мертвых и двух живых малышей. Семь маток родили нормально : одна из них была покрыта снова сразу после родов. Она, и еще другая самка, были полные в момент вскрытия.

Бактериологические и иммунологические исследования произведенные над 24-х двух месячных маленьких, которые родились живыми, показали, что маленькие двух помётов неповреждены; маленькие трех помётов зараженные; на девяти малышей из трех других помётов, пять бактериологически положительные. Нужно отметить хорошую связь между результатами бактериологических и иммунологических исследований, с одним исключением — последняя группа малышей, в которой обнаружили один случай бруцеллёза серологически неочевидный и два случая со слабой реакцией.

Можно свести конгенитальный бруцеллёз телёнка с бруцеллёзом морской свинки; последний может служить « моделью » для исследования конгенитальной передачи этой инфекции.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- GHAEMOLSABAH I A., SANANES N., PANIGEL M., 1968. La mesure du pH et de la PO₂ du sang artériel et veineux maternel et ombilical à la fin de la gestation chez le cobaye. *J. Physiol.* **60**, suppl., 1, 252.
- JONES L. M., DIAZ R., TAYLOR A. G., 1973. Characterisation of allergens prepared from Smooth and Rough Strains of *Brucella melitensis*. *Brit. J. exper. Pathol.*, **54**, 492-508.
- PLOMMET M., FENSTERBANK R., RENOUX G., GESTIN J., PHILIPPON A., 1973. Brucellose bovine expérimentale. XII. Persistance à l'âge adulte de l'infection congénitale de la génisse. *Ann. Rech. vétér., Fr.*, **4**, 419-435.
- PRICHARD W. D., HAGEN K. W., GORHAM J. R., STILES F. C., 1971. An Epizootie of Brucellosis in Mink. *J. amer. veter. med. Ass., U. S. A.*, **159**, 635-637.
- RENOUX G., ROMAN G., QUATREFAGES H., 1950. Infection latente du cobaye nouveau-né issu de mère atteinte de *Brucellose (Br. melitensis)*. *C. R. Soc. Biol., Fr.*, **144**, 349.
- RENOUX G., 1957. Études sur la Brucellose ovine et caprine. XVI. Essais de dépistage de la Brucellose par réactions sérologiques comparées aux cultures chez les chèvres tuées aux abattoirs de Tunis. Présence probable du phénomène de tolérance immunitaire. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, **34**, 227-229.
-