

2 V0000 570

ru

570

BRUCELLA ABORTUS D'ORIGINE BOVINE AU SENEGAL :
IDENTIFICATION ET TYPAGE

J.M. VERGER (1), M. GRAYON (1), M.P. DOUTRE (2) et F. SAGNA (2)

(1) Station de Pathologie de la Reproduction, Centre de Recherches de Tours,
I.N.R.A., Nouzilly, 37380 Monnaie, France.

(2) Laboratoire National de l'Elevage et de Recherches vétérinaires, I.S.R.A.
B.P. 2057, DAKAR-HANN, République du Sénégal.

1978

BRUCELLA ABORTUS D'ORIGINE BOVINE AU SENEGAL :
IDENTIFICATION ET TYPAGE

J.M. VERGER (1), M. GRAYON (1), M.P. DOUTRE (2) et F. SAGNA (2)

- (1) Station de Pathologie de la Reproduction, Centre de Recherches de Tours,
I.N.R.A., **Nouzilly**, 37380 **Monnaie**, **France**.
- (2) **Laboratoire** National de l'**Elevage** et de Recherches **vétérinaires**, I.S.R.A.
B.P. 2057, **DAKAR-HANN**, République du **Sénégal**.

R E S U M E

Cent quatre vingt une souches de Brucella d'origine bovine, isolées au Sénégal, de 1976 à 1978, ont été **identifiées** par l'ensemble des épreuves **recommandées** par le Sous-Comité de la **Taxonomie** de ce genre bactérien. Leurs **caractères** sont, pour l'essentiel, **conformes** à la définition de l'**espèce** Brucella abortus au sein de laquelle 180 souches appartiennent au biotype 3 et une au biotype 1.

Deux caractères inhabituels pour cette espèce distinguent toutefois les souches sénégalaises : leur réponse négative - à une exception près- à l'épreuve de l'**oxydase** et leur profil **moyen** d'oxydation **métabolique modifié** au niveau de 4 des substrats conventionnels (**L-asparagine, L-arabinose, D-galactose et D-xylose**). Ces deux caractères originaux sont discutés d'un double point de vue, **épidémiologique et taxonomique**.

, S U M M A R Y

Brucella abortus isolated from cattle in Senegal : identification and typing.

One hundred and eighty one strains of Brucella isolated from cattle in various areas of Senegal, during a two-year period from 1976 to 1978, were examined by all methods recommended by the subcommittee on Taxonomy of the genus Brucella. All were found to have the same main characteristics that identify and define the species Brucella abortus. Of the 181 strains, all but one were biotype 3 ; the single different strain was biotype 1.

However two unusual characters distinguish the senegalese strains from the main group of Brucella abortus : the oxidase test negative for all but one strains and the specific oxidative profile altered on four of the conventional substrates (L-asparagine, L-arabinose, D-galactose and D-xylose). These two original characters are discussed from an epidemiological and taxonomical point of view.

BRUCELLA ABORTUS D'ORIGINE BOVINE AU SENEGAL : IDENTIFICATION ET TYPAGE

J.M. VERGER (1), M. GRAYON (1), M.P. DOUTRE (2) et F. SAGNA (2)

(1) Station de Pathologie de la Reproduction, Centre de Recherches de Tours,
I.N.R.A., Nouzilly, 37380 Monnaie, France.

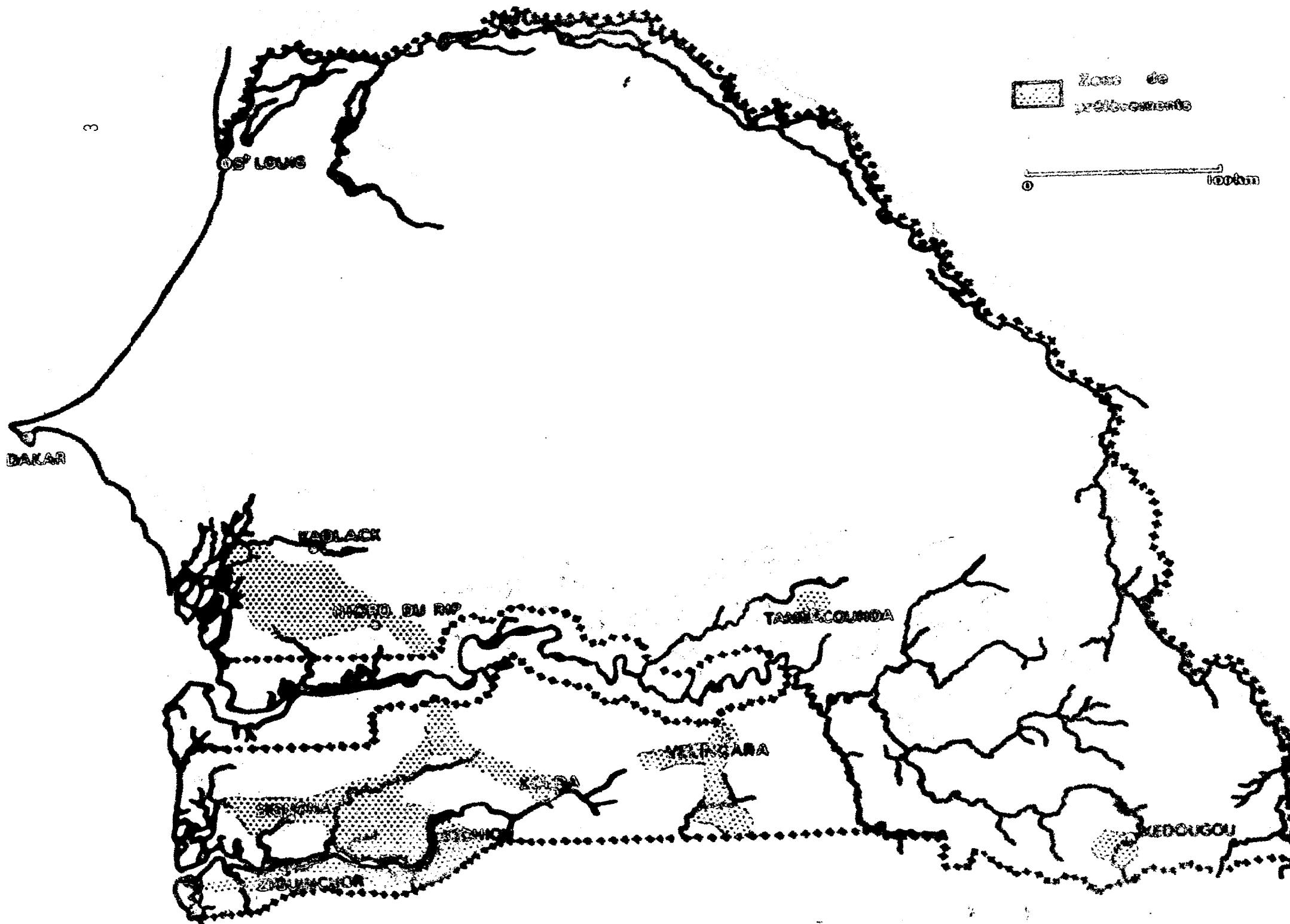
(2) Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires, I.S.R.A.,
B.P. 2057, Dakar-Hann, République du Sénégal.

Le genre Brucella est subdivisé en 6 espèces (10). Cinq sont présentes en Afrique : B. abortus, B. melitensis, B. suis, B. ovis (18) et B. canis (21). La rareté des articles consacrés au typage limite malheureusement la connaissance de la nature et de la fréquence des biotypes correspondants.

En ce qui concerne le Sénégal, les données publiées par CHAMBRON, en 1965 (3), portent sur un nombre trop restreint de souches et n'intègrent pas les propositions du Sous-Comité de la Taxonomie des Brucella, alors récemment créé, sur la différenciation au sein des espèces de ce genre bactérien (15).

Cent quatre vingt et une souches de B. abortus d'origine bovine, isolées dans ce pays, ont fait l'objet d'un typage et, pour 65 d'entre elles, d'une détermination de profil d'oxydation métabolique. Outre la nature des biotypes, ce travail révèle, pour les souches sénégalaises, deux caractères -biochimique et métabolique- inhabituels pour l'espèce B. abortus. Les résultats sont discutés d'un point de vue à la fois taxonomique et épidémiologique.

.'. Figure 1 - Origine géographique des 181 souches de Brucella abortus d'origine bovine isolées au Sénégal.



MATERIEL ET METHODES

1 - SOUCHES BACTERIENNES

Les 181 souches isolées à la suite de différentes tournées accomplies dans le sud du Sénégal (Sine-Saloum, **Sénégal-Oriental**, Haute, Moyenne et Basse-Casamance), de 1976 à 1978, sont toutes d'origine bovine et proviennent chacune d'un animal différent (fig. I). Tous les troupeaux visités appartiennent à la race Ndama. Les isolements ont été obtenus à partir de liquides de ponction d'hygromas mis en culture sur milieu "Brucella agar modifié", additionné de polymyxine, bacitracine et cycloheximide (mélange P.B.C. lyophilisé) (x).

Après 4 jours d'incubation à 37°C, sous atmosphère convenable de CO₂ (GASPAC Anaerobic System (x)), l'examen morphologique et microscopique permet de reconnaître, sur les boîtes de milieu sélectif, les colonies de Brucella. Celles-ci sont repiquées sur des pentes de "gélose trypticase soja" (x) supplémentée à 1 p.1000 d'extrait de levure et, après incubation, les tubes de culture sont envoyés à Nouzilly pour identification et typage.

2 - METHODES D'IDENTIFICATION

La détermination du genre Brucella repose sur les méthodes bactériologiques simples (tableau 1) recommandées pour le diagnostic différentiel avec les groupes de bactéries à Gram négatif pouvant prêter à confusion (1, 10).

L'épreuve de l'oxydase est pratiquée, pour chaque souche, suivant deux techniques : la première est celle classique de KOVACS ; la seconde utilisant, comme réactif, l'hydrochlorure de N-diméthyl-paraphénylène-diamine, permet, en versant celui-ci à la surface du milieu solide de culture, de tester rapidement l'homogénéité de la réaction de l'oxydase au sein d'une population de colonies bactériennes. Ces deux techniques sont décrites par LENNETTE, SPAULDING et TRUANT (6).

.../...

(x) BIOMERIEUX : Marcy l'Etoile, 69260 Charbonnières-les-Bains, France.

Tableau 2 : Caractérisation de 181 souches de Brucella abortus d'origine bovine isolées au Sénégal, par les épreuves conventionnelles d'identification.

| Nombre de souches | Oxydase | Lyse par le phage Tb | | Exigence en CO ₂ | Production de H ₂ S | Agglutination par les sérums mnospécifiques | | Croissance en présence de colorants | | | | | | Biotype | Espèce |
|-------------------|---------|----------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------|---|---|-------------------------------------|----|----|------------------|----|----------------|---------|------------------|
| | | DCE (1) | 10 ⁴ x DCE | | | A (2) | M | Thionine | | | Fuschine basique | | Safra- nine | | |
| | | | | | | | | 10 (3) | 20 | 40 | 10 | 20 | 100 | | |
| 1 | | t | + | + | t | + | | | | | + | + | t | 1 | <u>B.abortus</u> |
| 1 | + | t | t | + | + | -- | t | + | t | t | t | t | t | 3 | |
| 179 | | t | + | t | t | t | t | t | t | t | t | t | + | | |

(1) DCE = Dilution courante d'épreuve

(2) A = anti-abortus-suis ; M = anti-melitensis

(3) Concentrations exprimées en µg de colorant par ml de milieu gélosé (sérum dextrose agar).

Tableau 3 : Consommation d'oxygène (O₂N), après 24 heures de culture sur milieu "Trypticase Soy agar" de 65 souches de Brucella abortus d'origine bovine isolées au Sénégal, en présence de différents substrats.

| Biotype | Oxydase | Dimension de l'échantillon | Paramètres statistiques ou valeurs individuelles | Substrats | | | | | | | | | | | |
|---------|---------|----------------------------|--|----------------|--------------------|-----------|--------------|------------|--------------|----------|-------------|-------------|----------|----------|-----------------|
| | | | | x ₀ | acide L-glutamique | L-alanine | L-asparagine | L-arginine | DL-ornithine | L-lysine | L-arabinose | D-galactose | D-ribose | D-xylose | Mésosérythritol |
| 1 | - | 1 | X ₁ | 97 | 266 | 135 | 0 | 37 | 0 | 0 | 14 | 13 | 382 | 165 | 430 |
| 3 | + | 1 | X ₁ | 87 | 222 | 171 | 0 | 53 | 28 | 14 | 33 | 15 | 397 | 173 | 370 |
| | | 63 | w | 65-147 | 208-409 | 148-298 | 0-18 | 39-132 | 12-116 | 0-35 | 5-87 | 2-102 | 257-506 | 102-275 | 182-50 |
| | | | X | 97 | 279 | 225 | 2 | 80 | 47 | 15 | 45 | 39 | 391 | 180 | 370 |
| | | | S | 18 | 39 | 31 | 4 | 18 | 23 | 9 | 17 | 18 | 54 | 38 | 60 |

x La respiration endogène (colonne 0) est soustraite et les valeurs sont exprimées en microlitres d'oxygène consommé par milligramme d'azote bactérien et par heure ($\mu\text{O}_2/\text{mg N/h}$).

Symboles utilisés : W, amplitude ou intervalle entre les valeurs extrêmes observées ;

X, moyenne de l'échantillon ;

S, écart type de l'échantillon ;

X_i, valeurs individuelles.

Figure 2 - Représentation graphique des **résultats** du **métabolisme oxydatif** :
Profil **métabolique moyen** des souches de Brucella abortus d'origine bovine isolées au Sénégal.
Comparaison avec les profils **métaboliques** les plus probables pour les **espèces** et types de Brucella dont la présence a été signalée en Afrique.

Niveau QO_2N :

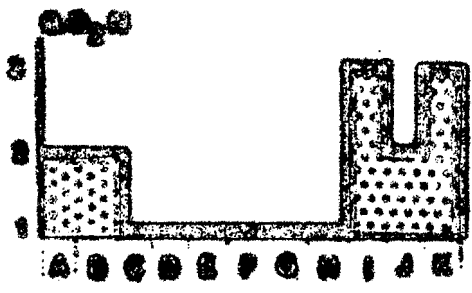
1. QO_2N **moyen** inférieur à 100
2. QO_2N **moyen** compris **entre** 100 et 300
3. QO_2N **moyen** supérieur à 300

Substrats :

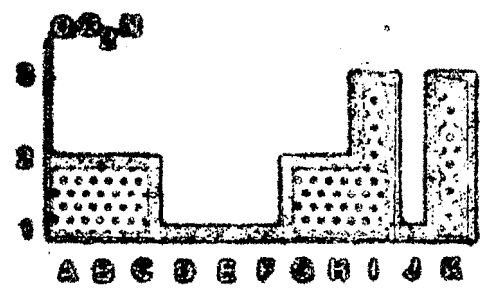
| | |
|------------------------|---------------------|
| A = Acide L-glutanique | G = L-ambinose |
| B = L-alanine | H = D-galactose |
| C = L-asparagine | I = D-ribose |
| D = L-araginine | J = D-xylose |
| E = DL-ornithine | K = Meso-erythritol |
| F = L-lysine | |

Surface pointillée : **profil** le plus probable quelle que soit la souche.

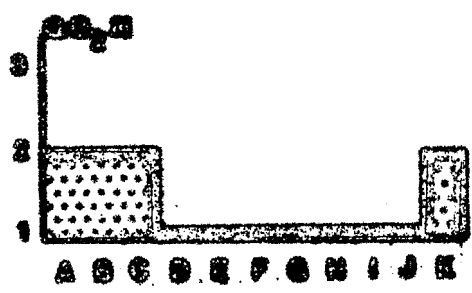
Surface **claire** : profil **moyen** de l'échantillon mais, en raison du grand intervalle entre les valeurs **extrêmes** observées, le substrat peut être oxydé à l'un ou l'autre des 3 **niveaux**.



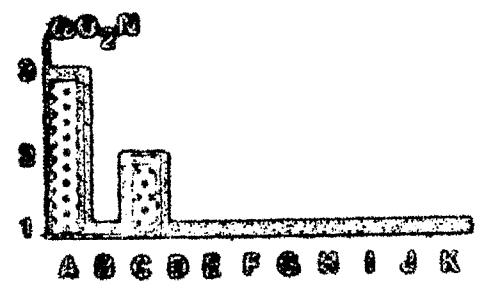
E. abortus (total)



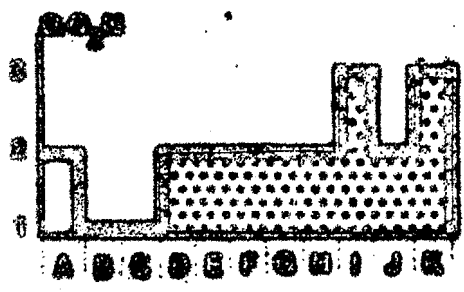
E. abortus



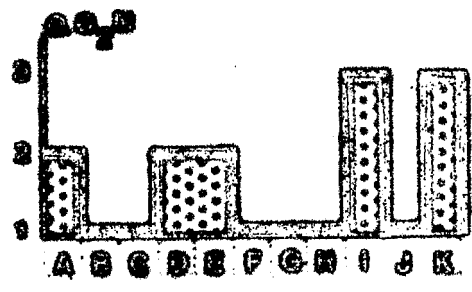
E. melitensis



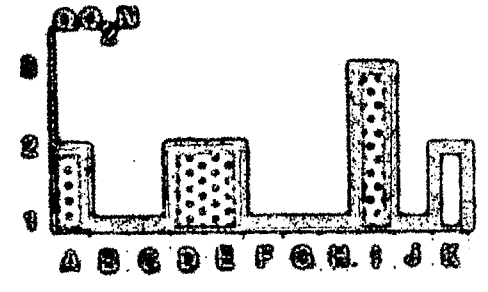
E. ovis



E. ovis 1



E. ovis 3



E. ovis

"RESULTATS

Les souches sénégalaises sont caractérisées par de nombreuses réponses négatives aux épreuves bactériologiques courantes d'identification des bactéries à Gram négatif (tableau 1). Ceci est conforme au comportement habituel des Brucella. Le test de l'oxydase, négatif pour toutes les souches sauf une, mérite attention. Il sera discuté plus loin.

Les résultats des épreuves courantes de différenciation au sein du genre Brucella sont présentés dans le tableau 2. Toutes les souches, de type morphologique smooth, sont lysées, aux deux dilutions d'épreuve (DCE et 10^4 x DCE), par le bactériophage Tb spécifique de Brucella abortus. Les autres caractères différencient les biotypes :

- 180 souches exigent l'addition de CO_2 pour leur croissance, produisent de l' H_2S , sont uniquement agglutinées par le sérum monospécifique anti-abortus-suis (A) et poussent en présence de thionine aux 3 concentrations indiquées. Ces caractères définissent B. abortus biotype 3.

- 1 souche identique par ailleurs aux précédentes s'en distingue par sa sensibilité aux mêmes concentrations de thionine. Elle est, de ce fait, classée dans le biotype 1 de l'espèce.

Les résultats de l'épreuve de l'oxydase figurent aussi dans le tableau 2. Une seule souche, appartenant au biotype 3, est positive. Toutes les autres, y compris la seule classée dans le biotype 1, sont oxydase négatives ; ce comportement est inhabituel pour l'espèce B. abortus.

Les résultats de l'étude du métabolisme oxydatif de l'unique souche du biotype 1 et de 64 parmi celles du biotype 3 -dont la seule oxydase positive- sont présentés dans le tableau 3. Il apparaît que, pour les 65 souches, les valeurs d'oxygène consommé vis-à-vis des substrats indiqués sont homogènes et indépendantes du biotype et du caractère oxydase. L'expression graphique de ces résultats (fig. 2) montre que le profil métabolique moyen des souches sénégalaises ressemble au "profil le plus probable" défini pour l'espèce B. abortus. Ce profil spécifique est cependant altéré, chez les souches sénégalaises, au niveau de 4 substrats :

- la L-asparagine, le L-ambinose et le D-galactose qui sont métabolisés au 1er niveau (QO₂N moyen inférieur à 100) au lieu du deuxième ;

- le D-xylose qui est oxydé au niveau 2 (QO₂N moyen entre 100 et 300) au lieu du premier.

En dépit de ces variations, le profil d'oxydation métabolique des souches sénégalaises ne peut être confondu avec celui des espèces de Brucella autres qu'abortus.

DISCUSSION

L'identification et le typage des 181 souches sénégalaises n'ont pas soulevé de difficulté. Les caractères morphologiques, **culturels** et **biochimiques**, présentés **dans** les résultats, sont conformes à ceux décrits **pour** le genre Brucella (1, 10) et le classement dans les biotypes 1 et 3 de B. abortus (tableau 2) ne souffre aucune ambiguïté. Deux caractères G-habituels pour cette espèce **méritent** cependant discussion : la réponse négative à l'épreuve de l'oxydase et l'**aspect** original du **profil d'oxydation** métabolique (*).

CARACTERE OXYDASE

Le genre Brucella comprend 6 espèces. **Quatre** sont réputées oxydase positives : B. abortus, B. melitensis, B. suis et B. canis ; B. ovis et B. neotomae sont caractérisées, au contraire, **par** des réactions **négatives** (1, 10). Toutes les souches de B. abortus, d'origines géographiques très diverses, que **nous** avons typées jusqu'à **présent** ont effectivement toutes répondu positivement à l'épreuve de l'**oxydase**. Le comportement négatif des souches sénégalaises -sauf une (**)- est donc très inhabituel. STEEL, cependant, a observé que des souches de B. abortus (1 sur 12), B. melitensis (1 sur 16) et B. suis (4 sur 7) étaient oxydase négatives (17). Il n'est donc pas **impossible** que, **pour** ces trois espèces, la réponse à l'épreuve de l'oxydase soit négative plus souvent que ne le laissent supposer les articles **d'identification** et de **typage** de ces bactéries, où souvent d'ailleurs les résultats de ce test ne sont pas mentionnés.

Ces faits **soulignent** donc l'**intérêt** taxonomique et **épidémiologique** de la mise en oeuvre systématique de l'**épreuve** de l'oxydase **pour** l'étude bactériologique des Brucella.

.../...

(*) Une inhabituelle lenteur de croissance est **également** manifestée par toutes les souches sur milieu **Trypticase Soy Agar**. Cette autre particularité, plus subtile mis régulièrement observée, vaut **d'être** notée.

(**) Isolée au village de **Ndombouthie**, **près** de Sokone (**Sine-Saloum**). Onze autres souches oxydase négatives ont **été** isolées dans le **même** village.

Le support biochimique de la différence de réponse des espèces ou souches de Brucella à l'épreuve de l'oxydase n'est pas connu. Cette méthode, basée sur l'aptitude de la chaîne respiratoire à oxyder un certain nombre de colorants, ou systèmes redox, n'est pas spécifique et ne permet pas, à elle seule, de définir les bases biochimiques de la réaction de l'oxydase (14). Une corrélation entre la présence d'un cytochrome c dans la partie terminale de la chaîne respiratoire et une réponse positive à l'épreuve de l'oxydase a pu être avancée pour certains groupes bactériens (Pseudomonas, Moraxella) (16). Ce n'est pas le cas pour le genre Brucella dont toutes les espèces, y compris B. ovis et B. neotomae oxydase négatives, contiennent du cytochrome c (12, 13, 23).

PROFIL D'OXYDATION METABOLIQUE

MEYER et CAMERON, sur une gamme définie de substrats (acides aminés et glucides), ont établi que chaque espèce de Brucella est caractérisée par un schéma d'oxydation métabolique particulier (8, 9). Nous avons montré (22) que les consommations d'oxygène (QO_2N), vis-à-vis des substrats choisis, peuvent être schématiquement ramenées à 3 niveaux :

- Le niveau 1 réunit les substrats vis-à-vis desquels la consommation d'oxygène est régulièrement faible : QO_2N moyen inférieur à 100 ;
- Le niveau 2 correspond à une consommation modérée d'oxygène : QO_2N moyen compris entre 100 et 300 ;
- Le niveau 3, enfin, groupe les substrats pour lesquels la consommation d'oxygène est constamment élevée : QO_2N moyen supérieur à 300.

La représentation graphique de cette distribution des substrats matérialise un profil métabolique caractéristique de chaque espèce de Brucella (fig. 2). Le choix des valeurs limites (100 et 300) tient compte à la fois des consommations moyennes (\bar{X}) et de la dispersion des valeurs individuelles (W), de telle sorte que le profil métabolique moyen, ainsi défini, est le plus probable pour n'importe quelle souche de l'espèce considérée.

L'espèce B. abortus est donc caractérisée (fig. 2) par l'oxydation probable des substrats :

- **L-arginine**, DL ornithine, L lysine et D-xylose au niveau 1 ;
- acide L-glutamique, L-alanine, L-asparagine, L-ambinose et D-galactose au niveau 2 ;
- **D-ribose** et **meso-erythritol** au niveau 3.

Les souches sénégalaises diffèrent donc de ce profil type au niveau de 4 substrats : la L-asparagine, le **L-arabinose**, le D-galactose et le D-xylose qui sont oxydés à un niveau **inhabituel**. Leur **profil métabolique** ressemble cependant à celui de B. abortus plus qu'à aucun des autres espèces du genre (f i g . 2).

Les souches sénégalaises ne sont pas les seules, au sein de l'espèce B. abortus, à **présenter** une fluctuation de QO_2N habituel, au niveau d'un ou même de plusieurs substrats.

- La souche vaccinale B 19 oxyde de façon caractéristique l'acide **L-glutamique** et le **meso-erythritol**, respectivement aux niveaux 3 et 1 (2, 22).

- Nous avons également **rapporté** l'isolement de 4 souches de B. abortus biotype 1 -isolées chez une vache et 3 **mulots** (Apodemus sylvaticus) originaires d'une exploitation agricole massivement infectée de **Brucellose** bovine- qui., **comme** les souches du Sénégal, **manifestaient** une **consommation** d'oxygène **inhabituellement** faible (niveau 1) vis-à-vis de la L-asparagine (20). Ce caractère original avait permis en l'occurrence de **mettre** en évidence un lien **épidémiologique** certain entre les souches isolées des mulots et celle d'**origine** bovine.

L'intérêt du marquage épidémiologique de souches de B. abortus biotype 1 par un caractère métabolique inhabituel a été également rapporté, dans l'Etat du Minnesota (U.S.A.), par CHSINGER et coll. (7).

Des variations du profil métabolique type ont également été observées chez les autres espèces de Brucella. C'est le cas, en particulier, de souches de B. suis biotype 3 isolées par COOK et coll. chez des rongeurs dans le North Queensland (Australie) (4).

Ces exemples, parmi d'autres ont le mérite de souligner le double intérêt du métabolisme oxydatif chez les Brucella.

- 1 - Les variations rapportées jusqu'à présent, au niveau d'un ou plusieurs substrats, n'altèrent pas fondamentalement l'aspect général du profil métabolique spécifique. Celui-ci est donc un bon critère de détermination de l'espèce au sein du genre Brucella.
- 2 - Ces variations représentent des marqueurs épidémiologiques d'autant plus précieux que l'absence d'outils de marquage suffisamment fins (lysotypes, facteurs de résistance...) caractérise les Brucella.

CONCLUSION

L'analyse épidémiologique repose essentiellement sur des observations liées à des **méthodes** d'investigation propres au Laboratoire. Pour être efficace, elle doit faire appel à toutes les **méthodes** disponibles, y compris celles qui relèvent de l'identification et du typage bactériologiques. Vaine, en effet, serait la **prétention** de **maîtriser** une **maladie** infectieuse en ignorant l'agent responsable, en tant que tel, sous ses différents aspects que sont les espèces et leurs divers types.

C'est dans cet esprit que nous avons entrepris l'étude bactériologique des souches de Brucella isolées au Sénégal. La mise en évidence, sur celles-ci, de deux caractères inhabituels ayant valeur de marqueurs, illustre bien l'intérêt épidémiologique et taxonomique de **l'identification** et du typage des Brucella pour lesquelles, tant en Afrique que dans le reste du **monde**, la connaissance de la nature et de la **fréquence** des différents types responsables de l'infection est encore **trop fragmentaire**.

Pour se limiter au continent **africain**, il serait souhaitable que **l'ensemble** des souches isolées par les chercheurs des différents laboratoires soient centralisées afin de parvenir à une connaissance taxonomique plus complète.

, R E M E R C I E M E N T S

Qu'il nous soit permis ici de remercier MM. Mamadou DIALLO (Directeur du Service de la Santé et des Productions **Animales**), Moustapha DIA, Serigne Mbaye DIALLO et Sidy NIANG, **respectivement** Inspecteurs régionaux à Kaolack, Tambacounda et Ziguinchor, les Chefs de secteurs départementaux : Alioune TOURE (Nioro du Rip), Boubacar NGOM (Foundiougne), Mamadou NDAO (Kédougou), Gnele KANOUE (Vélingara), Lassana DIAGNE (Kolda), Amadou GUINDO (Sédhiou), Mbacké FAYE (Ziguinchor), Bécaye DIALLO (Bignona), Moussa SANGARE (Oussouye) et les agents techniques Issakha DIOP (Vélingara) et Mamadou DIATTA (Kolda) dont l'action conjointe a permis de recueillir **sur** le terrain, dans d'excellentes conditions, le **matériel** biologique nécessaire à l'exécution du présent travail.

Station de Pathologie de la **Reproduction**
I.N.R.A. Nouzilly

Laboratoire national de l'Elevage et de
Recherches vétérinaires

I.S.R.A.

, B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ALTON (G.G.), JONES (L.M.), PIETZ (D.E.) - La Brwellose. Techniques de Laboratoire. Deuxième édition. Genève, C.M.S., 1977.
- 2 - BROWN (G.M.), LOVE (E.L.), PIETZ (D.E.), RANGER (C.R.) - Characterization of Brucella abortus strain 19. Amer. J. Vet. Res., 1972; 33 : 759-764,
- 3 - CHAMBRON (J.) - La Brwellose bovine au Sénégal. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1965; 18 (I) : 19-38.
- 4 - COOK (I.), CAMPBELL (R.W.), BARROW (G.) - Brucellosis in North Queensland rodents. Aust. Vet. J., 1966; 42 : 5 - 8.
- 5 - JONES (L.M.) - Report of the International Committee on Nomenclature of Bacteria by the Subcommittee on Taxonomy of Brucella. Minutes of meetings, July 1966. Intern. J. System. Bacteriol., 1967; 17 : 371-375.
- 6 - LENNETTE (E.H.), SPAULDING (E.H.), TRUANT (J.P.) - Manual of clinical microbiology. Washington, American Society for Microbiology, 1974.
- 7 - LUCHSINGER (D.W.), ANGUS (R.D.), GUE (C.S.), ANDERSON (R.K.) - The utilization of Brucella abortus culturing and biotyping results in the epizootiologic investigation of bovine brucellosis. Proc. U.S. animal Health Ass., 1973 : 85-99.
- 8 - MEYER (M.E.), CAMERON (H.S.) - Metabolic characterization of the genus Brucella. 1. Statistical evaluation of the oxidative rates by which type 1 of each species can be identified. J. Bacteriol., 1961; 82 : 387-395.

- 9 - MEYER (M.E.), CAMERON (H.S.) - Metabolic characterization of the genus Brucella. II. Oxidative patterns of the described biotypes. J. Bacteriol., 1961; '82 : 396-400.
- 10 - MORGAN (W.J.B.), CORBEL (M.J.) - Recommendations for description of species and biotypes of the genus Brucella. Develop. bio. Standard; '31 : 27-37. (S. Karger, Basel 1976).
- 11 - PHILIPPON (A.) - Métabolisme oxydatif et lysotypie des Brucella. Symp. Ser Immunobiol. Stand,, 1970; '12 : 181-190.
- 12 - REST (R.F.), ROBERTSON (D.C.) - Characterization of the electron transport system in Bmcella abortus. J. Bacteriol., 1975; '122 : 139-144.
- 13 - RICHARDSON (M.) - Cytochrome oxidase in cells of the genus Brucella. J. Bacteriol., 1975; '74 : 699-706.
- 14 - SMITH (L.) - Cytochrome systems in aerobic electron transport. In "The Bacteria" edited by GUNSAIUS, I.C. and STANIER, R.Y., Vol. II : 365-396. Academic Press, New-York and London, 1961.
- 15 - STABLEFORTH (A.W.), JONES (L.M.) - Report of the Subcommittee on Taxonomy of the genus Bmcella. Intern. Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon., 1963; '13 : 145-158.
- 16 - STANIER (R.Y.), PALLERONI (N.J.), DOUDOROFF (M.) - The aerobic Pseudomonads : a taxonomic study. J. gen. Microbiol., 1966; '43 : 159-271.
- 17 - STEEL (K.J.) - The oxidase reaction as a taxonomic stool. J. gen. Microbiol. 1961; '25 ; 297-306.

- 18 - THIMM (B.), WUNDT (W.) - The epidemiological situation of Brucellosis in Africa. Develop. biol. Standard. 31 : 201-217 (S. Karger, Basel 1976)
- 19 - UMBREIT (W.W.), BURRIS (R.H.), STAUFFER (J.F.) - Manometric techniques. A manual describing methods applicable to the study of tissue metabolism. Burges Publ. Co., Minneapolis, 1964.
- 20 - VERGER (J.M.) - Un marqueur épidémiologique : la perte de l'activité oxydative d'une souche de B. abortus biotype 1 sur la L-asparagine par conservation à + 4°C des suspensions cellulaires. Ann. Rech. Vét., 1973; 4 : 241-252.
- 21 - VERGER (J.M.), GATE (M.), PIECHAUD (M.), CHATELAIN (R.), RAMISSE (J.), BLANCOU (J.) - Isolement de Brucellasuis biotype 5 à Madagascar, chez une chienne. Validité du nom d'espèce Brucella canis. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 1975, 126-A : 57-74.
- 22 - VERGER (J.M.), GRAYON (M.) - Oxidative profiles of Brucella species. Ann. Sclavo., 1977; 19 : 45-60.
- 23 - VERSHILOVA (P.A.), DRANOVSKAYA (E.A.), KUSHNAREV (V.M.) - Dopolnityel'nyy sposob opryedychniya prinadlyezhnosti bakteriy k rodu Brucella. (An additional method of determining the relationship of bacteria to the genus Brucella). Zh. Microbiol. (Mosk.), 1972; 49 : 98-101.
-