

COMMUNICATIONS

Évolution des anticorps chez les bovins après immunisation contre la brucellose par le vaccin tué H. 38.

G. RENOUX et L. R. VALETTE

Note présentée par M. GORET

Les anticorps post-vaccinaux peuvent, s'ils persistent, gêner considérablement l'application pratique de certains programmes de prophylaxie antibrucellique.

Il importe donc de connaître l'évolution dans le temps des anticorps chez les bovins vaccinés contre la brucellose. La réponse ainsi obtenue déterminera les limitations éventuelles, ou les avantages, de tel ou tel vaccin. C'est la somme des avantages apportés par un vaccin qui permettra, enfin d'en préconiser l'emploi pratique.

Jusqu'à ce jour, il n'est point de publication sur l'évolution des anticorps post-vaccinaux chez les bovins vaccinés par le vaccin tué 53 H. 38, alors que cette préparation dans les essais déjà publiés (8, 9) ou dans des expériences en cours de publication a donné des immunisations très supérieures à celles d'autres vaccins essayés dans les mêmes conditions.

La connaissance de l'évolution des anticorps est rendue plus importante encore après les Recommandations publiées par les Organismes internationaux (O. I. E., O. M. S., F. A. O., C. E. E.).

Pour répondre à cette question, nous disposons de résultats constatés sur 164 bovins, de race, âge et sexe différents, observés pendant 3 mois à 2 ans.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I. Vaccins.

1^o Vaccin H. 38 (4, 7, 8, 9) : il est préparé à partir de la souche *Br. melitensis* 53 H. 38. Cette souche, très virulente et très antigénique est cultivée sur milieu solide. On vérifie à la récolte qu'elle est

en phase lisse. Puis, on tue les bactéries par action du formol à 5 p. 1.000.

On disperse ensuite cette suspension bactérienne dans un excipient huileux de telle manière que l'on ait une suspension stable, dont 3 ml (dose bovine) contiennent environ 450×10^9 germes.

L'innocuité, l'efficacité de ce produit sont ensuite contrôlées selon les normes décrites par l'O. M. S.

2° Vaccin B. 19 : suspension de *Br. abortus*, souche BUCK 19 lyophilisée, titrant 60×10^9 bactéries vivantes par dose. La souche est la souche « U. S Vaccine strain », mutant sensible à la Thionine, Pénicilline, Safranine O et Erythritol.

3° Vaccin 45/20 : il est préparé à partir de la souche *Br. abortus* 45/20 de Mac Ewen. Les bactéries en phase « R » (450×10^9 par dose bovine) sont tuées par le formol et dispersées dans un excipient huileux. Cette dose est injectée par voie sous-cutanée, sous le volume de 3 ml.

4° Vaccin vivant souche *Br. melitensis* Rev. I : aimablement fourni, sous forme lyophilisée par le Professeur S. S. Elberg (2) et utilisé selon ses indications : injection sous-cutanée de 2 ml contenant 2×10^9 cellules vivantes.

II. Examens sérologiques.

Les réactions d'agglutination sont effectuées en tubes, sous forme d'agglutination lente à 37 °C, en présence d'un antigène étalonné par le Sérum Etalon international. La lecture tient compte de l'opacité à 50 % du surnageant et les résultats sont exprimés en Unités Internationales.

Les réactions de fixation du Complément sont faites selon une technique à froid, type Kolmer, avec un antigène cellulaire étalonné. Le titre minimal de positivité correspond au sérum bovin dilué au 1/4. Les résultats sont exprimés en « réciproque » des dilutions de sérum qui ont fixé le Complément.

L'une et l'autre réactions sont exécutées conformément aux recommandations de l'Office International des Epizooties, de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, de l'Organisation Mondiale de la Santé, de la Communauté Economique Européenne, du Ministère Français de l'Agriculture et aux techniques déjà publiées (1, 6, 10, 11, 12, 13).

III. Animaux.

Dans toutes les expériences, ce sont des bovins choisis dans des troupeaux indemnes de brucellose (sérologie du troupeau négative)

et chaque animal est, individuellement, vérifié indemne de brucellose par 4 examens sérologiques (agglutination et fixation du Complément) négatifs à une semaine d'intervalle.

Expérience 1 (Tableau 1).

— Génisses de race Limousine, âgées de 7 à 9 mois au moment des vaccinations. Des lots de 18 à 20 génisses chacun sont immunisés respectivement par les vaccins 53 H. 38 tué, Rev. 1, 45/20 tué (2 injections) et B. 19 et sérologiquement suivies pendant 3 mois avant l'épreuve infectante (8).

Expérience 2 (Tableau 1).

— Génisses de race Limousine, âgées de 7 à 9 mois, vaccinées par 53 H. 38 tué mélangé au vaccin anti-aphteux polyvalent, éprouvées 3 mois après cette vaccination (9).

Expérience 3 (Tableau 2).

— Génisses de race Normande « Pie rouge », âgées de 10 mois au moment des vaccinations par 53 H. 38 tué ou par B. 19 : comparaison des anticorps post-vaccinaux pendant 4 mois et 3 semaines.

Expérience 4 (Tableau 3).

— Génisses de race Normande « Pie rouge », âgées de 18 mois et vaccinées soit par 45/20 tué (2 ou 3 injections) soit par 53 H. 38 ; l'un et l'autre vaccins étant mélangés au vaccin anti-aphteux polyvalent.

Expérience 5 (Tableau 4).

— Génisses et châtrens de race Charollaise, âgées de 9 à 11 mois au moment de la vaccination par 53 H. 38 tué : épreuve infectante 688 jours ou 722 jours après la vaccination.

Les résultats des immunités constatés dans les expériences 3, 4 et 5 seront publiés ultérieurement.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les titres moyens d'agglutinines, exprimés en Unités Internationales, et de fixation du Complément sont rassemblés dans les Tableaux 1 à 4. Disons tout de suite que ces résultats sont remarquablement homogènes et qu'il n'a pas été utile de calculer les variances.

TABLEAU I. — *Agglutinines et sensibilisatrices des génisses « Limousine »
âgées de 7 à 9 mois au moment des vaccinations antibrucelliques*

Agglutinations (1)

Dates après vaccination	Vaccin Rev. 1 19 génisses	Vaccin B. 19 20 génisses	Vaccin 45/20 (+) 19 génisses	Vaccin H. 38 18 génisses	Vaccin H. 38 + F. A. 15 génisses
14 jours	350	215	0	200	38
32 —	170	152	0	290	100
45 —	100	125	0	200	110
60 —	48	55	0	101	71
75 —	52	40	0	101	74

(+) 1 génisse a montré 200, 100 et 50 U. I. à 45,60 et 75 jours.

Fixation du Complément (2).

14 jours	1	4,5	2	0	0
32 —	10	30	11	16	0
45 —		8	10	8	7
60 —	8	10		10	10
75 —	4	5,8	5	3	4

(1) En Unités Internationales (U. I.).

(2) Réciproque de la dernière dilution où il y a fixation positive.

TABLEAU 2

*Agglutinines et sensibilisatrices des génisses « Pie Rouge »
âgées de 10 mois au moment des vaccinations par B.19 ou par H.38.*

Dates après vaccination	Vaccin B.19 (17 génisses)		Vaccin H.38 (12 génisses)	
	Aggl. (1)	F. C. (2)	Aggl. (1)	F. C. (2)
30 jours	936	4	312	3
37 —	2.052	12	424	5
44 —	1.682	10	296	3
51 —	988	8	196	3
65 —	474	8	108	2
79 —	292	6	108	2
109 —	138	6	66	2
144 —	92	5	38	2

(1) En Unités Internationales (U. I.).
(2) Réciproque de la dernière dilution où il y a fixation positive.

TABLEAU 3

*Agglutinines et sensibilisatrices des génisses « Pie Rouge »
âgées de 18 mois au moment des vaccinations par 45/20 ou par H.38*

Dates après vaccination	Vaccin H.38 (9 génisses)		Vaccin 45/20 (18 génisses)	
	Aggl. (1)	F. C. (2)	Aggl. (1)	F. C. (2)
15 jours	128	5	18	0
30 —	448	5	28	0
45 —	500	7,5	30	0
65 —	420	9	30	0
75 —	380	10	22	0
105 —	60	6	< 10	0
200 —	33	2	< 10	0

(1) En Unités Internationales.
(2) Réciproque de la dernière dilution où il y a fixation positive.

Selon l'âge et la race des bovins au moment des vaccinations on note des écarts importants dans les titres maximaux des réactions d'agglutination.

Par exemple :

— à âge sensiblement égal, les génisses normandes « Pie rouge » produisent dix fois plus d'agglutinines que les génisses « Limousine »

TABLEAU 4

Evolution des agglutinines et sensibilisatrices chez des charollais âgés de 9 à 11 mois au moment de la vaccination par H. 38

Date (Jours)	9 mâles Aggl. (1)	8 femelles Aggl. (1)	Moyenne Générale	
			Aggl. (1)	F. C. (2)
18 jours	173	260	220	5
30 —	400	440	418	5
36 —	400	900	640	5
42 —	426	840	620	7,5
57 —	266	420	338	9
72 —	266	420	338	10
89 —	130	140	136	10
120 —	84	90	87	6
155 —	38	65	50	5
169 —	— 30	52	40	5
200 —	20	— 31	— 25	5
251 —	11	7,5	9,4	5
290 —	8,8	7,5	8	0
328 à 650	10	7,5	8,8	0

(1) En Unités Internationales (U. I.).

(2) Réciproque de la dernière dilution où il y a fixation positive.

après vaccination par la souche B. 19 ; cette différence n'étant pas constatée après l'immunisation par 53 H. 38.

— les génisses « Pie rouge » de 18 mois présentent des titres agglutinants de suspicion quand elles sont vaccinées par 45/20 tué, alors que ce vaccin n'induit d'agglutinines dans nos expériences qu'accidentellement chez les génisses de 7 à 9 mois. Toutefois on a déjà noté que ce type de vaccin pouvait créer des anticorps spécifiques chez les veaux (3).

Mais ces différences, pour intéressantes qu'elles soient, ne masquent jamais le fait essentiel, répété à chacune des 5 expériences (Tableau 5).

Deux à trois mois après la vaccination par H. 38 des bovins jeunes âgés de 7 à 11 mois, le taux des agglutinines est égal ou inférieur au taux de 100 U. I. (*). Cinq mois après la vaccination, le taux des agglutinines est inférieur au taux de 50 U. I. Le taux des agglutini-

(*) 100 U. I. est le taux diagnostique recommandé par les Experts F. A. O./O. M. S. pour les bovins non vaccinés ou de passé inconnu ; chez les vaches vaccinées par B. 19, le taux diagnostique est de 200 U. I.

TABLEAU 5

Temps nécessaire pour qu'après vaccination antibrucellique les titres d'anticorps n'interfèrent plus avec le diagnostic sérologique

A) Normes O. M. S./F. A. O.

Vaccin	Age des génisses	Agglutination		Fixation du Complément	
		≤ 100 U. I.	≤ 50 U. I.	≤ 1/4	≤ 1/2
B. 19	7-11 mois	60 à 140 jours	75 à ? jours	144 jours	?
H. 38	7-11 mois	60 à 120 jours	140 à 150 jours	40 jours à	75 jours à
	18 mois	100 jours	200 jours	200 jours	200 jours

B) Normes Françaises

Vaccin	Age des génisses	Agglutination		Fixation du Complément	
		≤ 80 U. I.	≤ 30 U. I.	≤ 1/4	≤ 1/2
B. 19	7-11 mois	150 jours	?	144 jours	?
H. 38	7-11 mois	60 à 155 jours	144 à 200 jours	40 jours à	75 jours à
	18 mois	105 jours	200 jours	200 jours	200 jours

nes est inférieur à 30 U. I., taux de suspicion dans la réglementation française et européenne (*) 5 à 6 mois après la vaccination. Chez les bovins âgés de 18 mois à la vaccination par H. 38, le titre de 100 U. I. est atteint en 4 mois, celui de 50 U. I. et celui de 30 U. I. en 7 mois. Trois cents jours après la vaccination, les titres d'agglutinines sont peu différents du zéro.

La réaction de Fixation du Complément est à la limite de la positivité (taux de 1/4) ou négative en 40 à 200 jours chez les jeunes génisses vaccinées par H. 38. Elle se négative de la même façon chez les bovins vaccinés à 18 mois.

Les titres correspondants d'agglutinines ou de sensibilisatrices subsistent bien plus longtemps après la vaccination par la souche B. 19 ou par Rev. 1.

Ainsi, chez les génisses vaccinées par H. 38, on est en dessous des titres d'agglutination considérés comme taux diagnostiques par le Comité F. A. O./O. M. S. d'Experts de la Brucellose et en dessous du titre de suspicion admis par la Communauté Economique Européenne en 5 mois environ après cette vaccination. Cette baisse des

(*) Circulaire Ministérielle (12).

anticorps est plus rapide chez les bovins vaccinés par H. 38 que ceux vaccinés par B. 19, au point que, obtenant des résultats meilleurs que ceux autorisés par la Recommandation de la C. E. E., on constate que les génisses vaccinées entre 7 et 11 mois d'âge par le vaccin H. 38, présentent 3 à 5 mois plus tard, donc à des âges compris entre 10 et 16 mois des titres d'agglutinine ou de sensibilisatrice égaux ou inférieurs à ceux qui sont autorisés chez les bovins de 30 mois, antérieurement vaccinés par B. 19. A l'âge de 30 mois les vaches vaccinées jeunes par H. 38, ne présentent plus d'anticorps post-vaccinaux depuis longtemps, puisqu'elles sont négatives moins d'un an après la vaccination.

Par conséquent, la vaccination des génisses par le vaccin H. 38 ne risque pas de créer des anticorps spécifiques vaccinaux qui puissent interférer avec l'appréciation ultérieure de l'état brucellique des bovins. Bien plus, encore que ce procédé ne soit à recommander qu'avec beaucoup de réserves, on peut affirmer la vaccination des génisses de 18 mois les laissera indemnes d'anticorps vaccinaux avant qu'elles aient atteint l'âge de 30 mois.

RÉSUMÉ

Au cours de 5 expériences portant sur 164 bovins et durant de 3 mois à 2 ans, la cinétique des agglutinines et sensibilisatrices induites chez les bovins, âgés de 7 à 18 mois selon l'expérience, par le vaccin antibrucellique tué, souche *Br. melitensis* 53 H. 38 a été étudiée seule ou comparée aux effets similaires d'autres vaccins.

Les anticorps post-vaccinaux créés chez les bovins par le vaccin H. 38 disparaissent plus vite que ceux dus au vaccin B. 19. On constate l'absence de taux diagnostique (normes F. A. O./O. M. S.) d'agglutinine (100 U. I.) ou de sensibilisatrice (titre 1/4) 2 à 3 mois après la vaccination par H. 38. L'absence de taux de suspicion aux normes de la C. E. E. et françaises se note 5 à 6 mois après la vaccination par 53 H. 38.

Les réactions d'agglutination et de Fixation du Complément sont négatives un an après la vaccination, bien avant que les vaches aient 30 mois. Le vaccin tué, souche *Br. melitensis* 53 H. 58 ne risque donc pas d'interférer avec des programmes de prophylaxie antibrucellique mettant en jeu la recherche des anticorps spécifiques.

SUMMARY

In five experiments on 164 cattle, each of a duration from 3 months to 2 years, the behaviour of agglutinating and C. F. antibodies crea-

ted on bovine 7 to 18 months old, depending on the experiment, by *Br. melitensis* strain 53 H. 38 killed vaccine is studied alone or in comparison with similar effects of other antibrucellosis vaccines.

Post vaccinal antibodies due to H. 38 vaccine disappear more quickly than those induced on bovine by strain 19 vaccine. There stand no specific agglutinins at the F. A. O./W. H. O. diagnostic level (100 I. U.) or C. F. antibodies (titer 1/4) 2 to 3 months after H. 38 vaccination. Five to 6 months after such a vaccination, there are no brucella antibodies at the suspicious titer (30 I. U.) retained by European and French authorities.

There are no remains of either antibodies one year after H. 38 vaccination, long before cattle has reached 30 months of age.

Thus, the killed in adjuvant, *Br. melitensis* strain H. 38, vaccine will not interfere with campaigns of animal brucellosis control using a test policy.

(*Faculté de Médecine de Tours et Institut Mérieux, Marcy l'étoile-Rhône*).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Comité d'Experts F. A. O./O. M. S. de la Brucellose, 4^e Rapport. *Org. mond. Santé, Sser. Rapp. Techn*, 1963, **289**.
2. ELBERG (S. S.), et FAUNCE (W. K. jr.). — Immunization against Brucella infection. VI. Immunity Conferred on goats by a nondependent mutant from a streptomycin, dependant mutant strain of *Brucella melitensis*. *J. Bact.* 1957, **73**, 211/217.
3. FLORENT (A.) et KEYSER (J.) de. — Réactions sérologiques chez les veaux causées par l'injection de vaccins antibrucelliques du commerce à base de la souche Mac Ewen 45-20. *Bull. Off. internat. Epizooties*, 1965, **63**, 1137/1142.
4. RENOUX (G.), ALTON (G.) et AMARASINGHE (A.). — Etudes sur la Brucellose ovine et caprine. XI. Comparaison chez la chèvre suédoise de la valeur immunisante d'un vaccin tué en excipient irrésorbable et de deux vaccins vivants. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1957, **34**, 3/17.
5. RENOUX (G.). — Etudes sur la Brucellose ovine et caprine. XV. Du diagnostic sérologique de la Brucellose individuelle des chèvres artificiellement infectées par *Brucella melitensis*. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1957, **34**, 207/225.
6. RENOUX (G.). — Brucellose caprine. I. Bactériologie et Sérologie d'un troupeau de chèvres observées pendant deux ans et demi. *Ann. Zootechn.* 1961, **10**, 233/277.
7. RENOUX (G.). — Immunisation des chèvres et des brebis contre la Brucellose au moyen de microbes tués incorporés à une huile minérale. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, **103**, 786/801.
8. RENOUX (G.), NICOLAS (J. A.), IMBERT (R.) et QUECHON (M.). — Immunisation des génisses contre l'infection par *Br. abortus*. Comparaison de quatre vaccins. *Rev. Immunol.*, 1964, **28**, 121/140.

9. RENOUX (G.), NICOLAS (J. A.), IMBERT (R.) et QUECHON (M.). — Immunisation des génisses contre la Brucellose par l'association du vaccin antibrucellique tué, en excipient, et du vaccin anti-aphteux. *Bull. Acad. Vet.* 1964, **37**, 497/502.
 10. RENOUX (G.) et GAUMONT (R.). — Méthodes de diagnostics biologiques des brucelloses animales. Cahiers techniques du C. N. C. E. R. N. A., XII. *Publications du C. N. R. S.*, Paris, 1966.
 11. Décret 65, 1177, 31/12/65.
 12. Arrêté 3/6/66, J. O. 5/6/66, p. 4509.
 13. Circulaire Ministérielle 2076/489 C. du 14/6/66.
-