

## Spécificité, fidélité et sensibilité des antigènes pulloriques de dépistage

par C. PAPAGEORGIOU, L. VALETTE,  
G. BÉRANGER et L. JOUBERT

---

Le dépistage sérologique de la pullorose-typhose (5, 6) a été récemment standardisé et réglementé (3, 4) en France (Code rural, Article 216, Arrêté ministériel du 11 février 1965 et note du 6 mai 1964) et s'intègre désormais dans la prophylaxie collective de la maladie (Décret du 8 juin 1963, Circulaires ministérielles des 27 janvier 1958, 30 septembre 1960, 23 juillet 1965 et Règlement technique du Syndicat National des Aviculteurs agréés du 8 juillet 1960). Or, certaines critiques se sont manifestées vis-à-vis de l'antigène standard réglementaire quant à sa *spécificité*, sa *fidélité* et sa *sensibilité*, incitant à des modifications dans le choix des souches, voire de la technique de préparation (2, 7, 8).

La *spécificité* du dépistage concerne la possibilité de réaction, avec l'antigène pullorique, de sérums d'oiseaux infectés par d'autres *Salmonella* que *S. pullorum-gallinarum*, voire de colibacillose à *E. coli* (erreurs par excès); sa *fidélité*, d'absence de réaction, avec l'antigène pullorique, de sérums d'oiseaux infectés avec des souches de *S. pullorum*, de structure antigénique différente de celle présentée par la souche choisie comme référence (erreurs *par défaut*); sa *sensibilité*, de positivités réactionnelles plus faibles et aussi plus tardives, pouvant être interprétées également comme des erreurs *par défaut*.

Ces erreurs par défaut, les plus graves sur le plan de l'hygiène, représentent le problème fondamental du dépistage de la pullorose sur des sérums de richesse très diverse en anticorps.

Il était donc digne d'intérêt de *préciser, par des séro-agglutinations quantitatives rapides, lues à temps variable, la valeur comparée de divers antigènes par rapport à l'antigène standard*, puisque, en ce domaine, *spécificité et sensibilité = rapidité*.

## PRINCIPE

Il consiste dans la comparaison des cinétiques de la séro-agglutination, révélée, vis-à-vis de diverses préparations antigéniques à taux variables, par des sérums, obtenus à titre expérimental, soit antisalmonelliques (*S. pullorum* et *S. gallinarum*), soit anticolibacillaires (*E. coli*), à taux fixe.

La réaction rationnelle complète, en échiquier, à antigènes et sérums variables, d'un intérêt pratique et dogmatique fondamental, n'a pas été opérée dans cette expérimentation, afin de révéler plus nettement l'influence revenant à l'antigène, en particulier dans les réactions hétérologues.

## MATÉRIEL, MÉTHODES ET TECHNIQUES

1) *Antigènes.*

Cinq préparations antigéniques, effectuées selon la technique standardisée et réglementée, concentrées, formolées, colorées au vert brillant, ont été utilisées.

Ag 1 = *S. pullorum*, souche standard Weybridge, légale en France, de formule antigénique 9, 12<sub>1</sub> et 12<sub>3</sub>, concentré à 6 p. 100 et frais d'une part, d'autre part concentré à 7 pour 100 et vieilli de plusieurs mois ;

Ag 2 = *S. pullorum*, souche {variante SPEARS, de formule antigénique 9, 12<sub>2</sub>, concentré à 6 pour 100 ;

Ag 3 = *S. pullorum*, souche mixte (standard + SPEARS ULBRICH, de formule antigénique 9, 12<sub>1</sub>, 12<sub>2</sub> et 12<sub>3</sub>, concentré à 6 p. 100 ;

Ag 4 = *S. pullorum*, mélange, à parties égales, des antigènes Ag 1 et Ag 2 ;

Ag 5 = Autres sérotypes de *Salmonella* en mélange, correspondant aux groupes A, B, C, D et E, soit d'antigènes somatiques les plus représentatifs : 2 ; 4 ; 6-7 ; 9 ; 3, respectivement.

2) *Sérums.*

Trois catégories ont été préparées à partir d'antigènes différents, sur différentes espèces animales.

a) Sérums anti-*S. pullorum* et *S. gallinarum*.

Sept sérums monovalents ont été préparés sur *poulet* à raison de 3 poulettes âgées de 3 mois par sérum, hyperimmunisées à 2 à 4 reprises, à 5 jours d'intervalle, par voie intramusculaire, avec 3 ml de suspension microbienne lavée, en phase S. La saignée, opérée dans la semaine suivant l'ultime injection, a livré un sérum qui, après centrifugation en godets d'acier inoxydable, a été stocké à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour stabiliser le pouvoir agglutinant.

Selon les touches d'immunisation, les sérums ont été désignés :

SS<sub>1</sub> : correspondant à la souche de *S. pullorum* de l'Ag 1 (standard) ;

SS<sub>2</sub> : correspondant à la souche de *S. pullorum* de l'Ag 2 (SPEARS) ;

SS<sub>3</sub> : correspondant à la souche de *S. pullorum* de l'Ag 3 (ULBRICH) ;

SS<sub>6</sub> : correspondant à la souche de *S. gallinarum* n° 705 (collection) ;

SS<sub>7</sub> : correspondant à la souche de *S. gallinarum* n° 251 (collection) ;

SS<sub>8</sub> : correspondant à la souche de *S. gallinarum* n° 260 (collection) ;

SS<sub>9</sub> : correspondant à la souche de *S. gallinarum* n° 261 (collection) ;

Un dixième sérum a été préparé sur *mouton* :

SS<sub>10</sub> : à partir de la souche de *S. pullorum* correspondant à Ag 1.

b) Sérums anti-*E. coli*.

Ils ont été préparés sur *lapin*, à partir de nombreux sérotypes colibacillaires : O<sub>1</sub> à O<sub>6</sub> ; O<sub>8</sub> à O<sub>10</sub> ; O<sub>13</sub> ; O<sub>15</sub> ; O<sub>17</sub> à O<sub>19</sub> ; O<sub>28</sub> ; O<sub>32</sub> ; O<sub>36</sub> ; O<sub>114</sub> à O<sub>117</sub> ; O<sub>136</sub> à O<sub>143</sub> ; O<sub>146</sub> et O<sub>147</sub>.

## OPÉRATIONS

*La séro-agglutination quantitative sur lame*, à antigène constant et sérum variable, a été choisie, car très proche de l'hémo-agglutination sur lame utilisée en pratique courante, mais cependant plus précise. Elle comprend le mélange, sur lame dégraissée et sèche, d'une goutte d'antigène et d'une goutte de sérum, à la

température de 20° C, en mouvement circulaire d'une effilure de pipette *Pasteur* boutonnée.

#### LECTURE

Observée sur miroir concave de *Kahn*, l'apparition des premiers micro-agglutinats est notée dans le temps, au chronomètre. La lecture est donc dynamique et les résultats obtenus traduisent la cinétique de la séro-agglutination.

#### RÉSULTATS

Ils sont contenus dans les tableaux résumés suivants et statistiquement interprétés (BÉRANGER-JOUBERT, 1).

On peut en tirer les conclusions suivantes, fondées sur une homogénéité remarquable de résultats, surtout dans la dynamique des réactions.

##### 1) SPÉCIFICITÉ.

- Vis-à-vis des *Salmonella* autres que *S. pullorum-gallinarum*, des agglutinations aspécifiques se manifestent, par ordre décroissant, régulièrement, pour les groupes D, B, E, A et C, tenant à la communauté de certains facteurs somatiques, 9 et 12 en particulier, *sans distinction nette entre les antigènes pulloriques standards et variants ayant servi à l'obtention des sérums* ;

- Vis-à-vis des *Escherichia*, alors que certains sérums anticolibacillaires ne réagissent avec aucun des antigènes salmonelliques interrogés, un nombre important d'entre eux forment des agglutinations co-spécifiques avec les *antigènes pulloriques variants*, alors que les *antigènes standards demeurent strictement spécifiques*.

Ainsi apparaît une *supériorité des antigènes standards sur les antigènes variants SPEARS et ULBRICH et mixtes, concernant leur spécificité vis-à-vis des infections colibacillaires*.

Pour lever les doutes devant une infection à *Salmonella* autre que *S. pullorum*, l'utilisation d'un antigène-mélange régional de facteurs somatiques, puis flagellaires, serait opportune.

##### 2) FIDÉLITÉ.

*Tous les antigènes pulloriques standards ou variants paraissent d'une égale fidélité, et sont donc aptes à dépister une infection à*

*S. pullorum-gallinarum*, quelle que soit la formule antigénique de la souche infectante. En pratique, même si quelques oiseaux, à titre exceptionnel, n'agglutinaient que difficilement ou avec retard (maladie débutante, immaturité sexuelle, phénomène de zone possible), le recouplement avec les autres résultats d'un dépistage collectif lèvera les doutes.

### 3) SENSIBILITÉ.

D'une bonne homogénéité vis-à-vis du *titre* ultime d'agglutination, les antigènes pulloriques se séparent quant à la *rapidité* de la réaction.

En effet, doit être relevée la *moindre rapidité de réaction de l'antigène formolé standard* concentré à 7 p. 100 et *vieilli* de plusieurs mois, vis-à-vis du même antigène *frais*, concentré, à 6 p. 100 seulement, peut-être par action trop prolongée du formol, dégradateur du pouvoir antigénique. Aussi les lots d'antigènes standards demanderaient-ils à être fréquemment renouvelés. La rapidité réactionnelle de l'antigène, fondement de la spécificité et de la sensibilité des séro- et hém-agglutinations rapides sur lames, est tout spécialement importante à considérer au cours des dépistages en grandes séries, opérés dans des conditions techniques marginales de température et de temps.

### 4) INTERPRÉTATION STATISTIQUE.

Il ressort de l'étude des droites représentant la variation du log. temps (t) en fonction du log. doses (d) :

a) *l'homogénéité*, satisfaisante dans l'ensemble, des résultats cinétiques, où se vérifie l'équation :  $\log. t = K. \log. d$  ;

b) *l'hétérogénéité*, en revanche, des coefficients angulaires ou des constantes des droites pour certains antigènes vis-à-vis d'un même sérum (droites sécantes et décalées par rapport à l'origine), alors que certaines ne montrent que des variations dans les constantes (droites parallèles) et que d'autres, enfin, ne présentent aucune variation (droites confondues) ;

c) *la corrélation* entre les variations des coefficients angulaires et la *dose* d'antigène d'une part, d'autre part entre les variations des constantes et la *nature* de l'antigène, suggérant la mise en jeu simultanée, à divers temps, de couples antigène-anticorps différents, et par conséquent hétérogènes ;

d) *la nécessité* de compléter cette étude par des séro-agglutinations rationnelles complètes, en échiquier, à antigènes et sérums

variables, dans des temps variables, qui sortaient du cadre de la présente étude d'un dépistage de routine.

En outre, demeurent deux problèmes statistiques dans le dépistage pullorique :

— la *sélection* progressive de mutants de relais de *S. pullorum*, favorisée par l'élimination régulière des souches classiques révélées par les antigènes correspondants classiques, et aussi par les populations considérables d'oiseaux, en brassage continu ;

— l'*échantillonnage* très large de sérums d'oiseaux spontanément atteints, nécessaire pour adopter des conclusions fermes, assorti du parallélisme séro-bactériologique et du contrôle de la descendance.

#### CONCLUSIONS

1) L'étude de la cinétique comparée des réactions de séro-agglutinations rapides sur lame avec des antigènes pulloriques colorés confirme l'*excellence de l'antigène standard réglementaire en France* (souche Weybridge de formule 9, 12<sub>1</sub> et 12<sub>3</sub>), sur les plans de la *spécificité*, de la *fidélité* et de la *sensibilité*.

2) Non strictement *spécifiques* vis-à-vis d'autres *Salmonella* que *S. pullorum-gallinarum*, les antigènes standards manifestent une nette supériorité vis-à-vis des antigènes variants de SPEARS (9, 12<sub>2</sub>) et d'ULBRICH (9, 12<sub>1</sub>, 12<sub>2</sub>, 12<sub>3</sub>) et de l'antigène mixte (standard + SPEARS), quant à la *spécificité* vis-à-vis d'infections à *E. coli*, d'où l'annulation des erreurs par excès dans le dépistage.

3) D'une *fidélité* régulière, les antigènes standards ou variants ne paraissent pas responsables d'erreurs par défaut dans le dépistage.

4) La *sensibilité*, semblable pour les antigènes standards et variants, paraît moindre pour les antigènes formolés vieillis, dont la cinétique de réaction se révèle plus lente.

5) Sous réserve du respect de la réglementation en vigueur et de certaines précautions de préparation, de stockage et d'utilisation, *aucun avantage n'est donc perceptible en faveur de l'introduction d'antigènes variants*, sinon dans le domaine de la recherche.

(Institut Mérieux-Marcy et Ecole  
Vétérinaire — Laboratoire de  
Maladies Contagieuses — Lyon.)

Sérums		SS 1 ( <i>S. pullorum</i> st sur poulet)							SS 10 ( <i>S. pullorum</i> st sur mouton)								
		pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Ag 1 (Standard)	7 % vieilli	4	9	18	42	100	180		0	0	0	9	21	56	180		
	6 % frais	0	3	6	18	52	95	180	0	0	0	0	12	34	105	180	
Ag 2 ( <i>Spears</i> ) .....		0	1	4	13	30	71	120	0	0	0	0	7	22	74	140	
Ag 3 ( <i>Ulbrich</i> ) .....		0	3	6	14	34	80	180	0	0	0	0	4	14	28	144	
Ag 4 (mixte 1 + 2) .....		0	2	6	16	55	168		0	0	0	0	8	18	62	165	
Ag 5 (autres <i>S</i> ) Groupes	A	18	38	77	183				15	23	48	128	220				
	B	40	88	163					0	9	19	37	50	70	124		
	C	12	33	71	180				20	20	20	24	36	51	84	160	
	D	7	16	28	107	180			0	0	0	10	22	37	40	69	120
	E	5	10	18	32	62	120	180	7	14	36	158					

Sérums Antigènes		SS 2 ( <i>S. pullorum</i> Spears sur poulet)										SS 3 ( <i>S. pullorum</i> Ulbrich sur poulet)												
		pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512		
Ag 1 (Standard)	7 % vieilli	0	0	0	0	0	0	16	36	164	180			0	0	0	0	0	13	30	178			
	6 % frais	0	0	0	0	0	7	14	28					0	0	0	0	5	14	17	177			
Ag 2 (Spears) .....		0	0	0	0	0	0	0	6	25	77	180	0	0	0	0	0	5	16	40	107			
Ag 3 (Ulbrich) .....		0	0	0	0	0	0	0	1	18	50	178	0	0	0	0	0	6	12	26	56	180		
Ag 4 (mixte 1 + 2) .....		0	0	0	0	0	0	8	21	63	180			0	0	0	0	6	19	70				
Ag 5 (autres S) Groupes	A	15	20	31	38	61	88	170	180					12	22	37	69	115	180					
	B	0	0	3	9	23	51	125	180					4	8	15	47	162						
	C	30	68	114	180									162	180									
	D	4	5	7	14	26	65	177	180					0	3	6	15	27	50	178				
	E	0	0	0	6	12	19	47	134	180				3	4	9	19	32	68	180				



Sérums		SS 6 ( <i>S. gallinarum</i> n° 705 sur poulet)										SS 7 ( <i>S. gallinarum</i> n° 251 sur poulet)								
		pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Ag 1 (Standard)	7 % vieilli	0	0	0	0	4	11	28	75	124		0	0	0	0	5	14	49	132	180
	6 % frais	0	0	0	0	5	13	30	174			0	0	0	0	4	15	50	134	180
Ag 2 ( <i>Spears</i> ) .....		0	0	0	0	0	3	9	27	78	127	0	0	0	0	7	14	49	180	
Ag 3 ( <i>Ulbrich</i> ) .....		0	0	0	0	0	4	10	32	100	180	0	0	0	0	3	10	26	82	180
Ag 4 ( <i>mixte 1 + 2</i> ) .....		0	0	0	0	0	8	18	43	110	152	0	0	0	0	5	16	35	108	180
Ag 5 (autres <i>S</i> ) Groupes	A	14	23	38	105							10	20	34	52	88	158	180		
	B	3	8	17	28	67	180					0	3	9	16	32	74	164		
	C	70	110	180								54	75	138	180					
	D	3	5	6	10	17	30	52	105	180		0	4	5	13	23	96	180		
	E	6	12	22	66	180						0	4	9	16	38	130			

Sérums		SS 8 ( <i>S. gallinarum</i> n° 260 sur poulet)										SS 9 ( <i>S. gallinarum</i> n° 261 sur poulet)										Sérums anti <i>E. coli</i>			
		pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512				
Antigènes																						Sérotypes O anti : 1, 2, 6, 32, 35, 117, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 146, 147.		Sérotypes anti : 4, 5, 9, 10, 15, 18, 19, 36, 114, 115, 142, 143.	
Ag 1 (Standard)	7 % vieilli	0	0	0	0	0	6	18	56	158											0	pur 1/2 1/4 1/8 1/16 1/32 0			
	6 % frais	0	0	0	0	0	11	21	46	148											0	+			
Ag 2 (Spears)...		0	0	0	0	0	4	9	33	180											0	+			
Ag 3 (Ulbrich)...		0	0	0	0	0	6	8	23	50	180											0	+		
Ag 4 (mixte 1+2)		0	0	0	0	0	6	15	50	135											0	+			
Ag 5 (autres S) Groupes	A	13	24	45	76	138					24	43	58	108	180						0				
	B	5	8	15	45	180					2	4	7	15	54	79	120	180			0				
	C	131									124	180									0				
	D	3	5	8	10	15	28	135			3	6	10	24	59	180					0				
	E	6	12	17	39	64	143				2	4	8	21	39	80	138				0				

Sérums anti <i>E. coli</i>	Anti- gènes	Antigène variant SPEARS						Antigène variant ULBRICH						
		pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	
		*												
3		3	3	6	17	180		0	6	9	22	180		
4		47	112											
5		7	12	31	57			74	118					
9		54						68	180					
10		0	3	6	12	35	180	0	22	44	66	95	158	
15		8	17	48	103	180		44	75	98	180			
17								26	52	82	158			
18		4	11	25	72	128								
19		0	4	15	36	68	180							
36		14	42	130				57	111					
114		15	36	76	162			57	104	180				
115		2	12	15	80	152								
142		17	50	158										
143		0	4	14	64	126								

\* Délais d'apparition des premiers agglutinats, en secondes.

## BIBLIOGRAPHIE

- BÉRANGER (G.) et JOUBERT (L.). — *Bull. Soc. Sci. Vét.*, Lyon, 1961, **63**, 147 et 235 ; 1962, **64**, 403 ; 1963, **65**, 48 ; *Econ. Méd. Anim.*, 1964, **5**, 98.
- BURTON (W. H.) et CARRARD (E. H.). — Réactions with pullorum antigen from fowl inoculated with coliform types. *Canadian J. Comp. Med.*, 1948, **12**, 20-25.
- JOUBERT (L.). — Législation sanitaire des Salmonelloses animales en France. Bosc éd., Lyon, 1966.
- JOUBERT (L.) et OUDAR (J.). — Le genre *Salmonella* et le diagnostic de Laboratoire des Salmonelloses animales. *Bull. Soc. Sci. Vét.*, Lyon, 1966, **68**, 495-579.
- LIVINEC (Y.). — Le diagnostic sérologique de la pullorose. *Thèse Doc. Vét.* Paris, 1962.
- LUCAS (A.), ANDRAL (L.), BOULEY (G.), PARAF (A.) et QUINCHON (C.). — Etude des réactions aspécifiques et spécifiques dans les maladies infectieuses à allure lente. *Rec. Méd. Vét.* Alfort, 1951, **127**, 953-970.
- RHOADES (H. E.). — The importance of the stability of some strains of the *S. pullorum* variant in the pullorum agglutination test. *Poultry Sci.*, 1955, **34**, 122-127.
- WRIGHT (M. L.). — A single tube antigen for the detection of standard and variant infections of *Salmonella pullorum* in adult fowls. *Poultry Sci.*, 1961, **30**, 621-623.