

Essai d'immunisation du rat blanc contre la brucellose à l'aide de la souche 45/20, tuée, en excipient irrésorbable

par Ch. PILET

(Note présentée par M. GORET)

Il est couramment admis que seuls les bacilles vivants sont capables de conférer une immunité valable en matière de brucellose.

Si les premiers essais concernant l'emploi de bacilles tués en vue de l'immunisation antibrucellique ne furent pas couronnés de succès, il semble que les échecs enregistrés tinrent à l'emploi de l'eau physiologique comme excipient.

En effet, de nombreux auteurs s'accordent pour reconnaître la valeur des « vaccins tués » lorsqu'ils sont additionnés de substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité.

Il serait trop long, dans le cadre de cette note, de mentionner les très nombreux travaux qui ont abouti en matière de brucellose à la connaissance de l'efficacité des vaccins tués. Une revue générale en préparation nous permettra de faire le point de la question. Rappelons cependant que les travaux de VELU et ZOTTNER (7), de STABLEFORTH (6), de McDIARMID et SUTHERLAND (3) en Angleterre, de RENOUX et SAQUET (5) en Tunisie et les très belles expériences de JACOTOT et VALLÉE (1, 2) en France, montrent que l'immunité conférée dans différentes espèces par des souches de brucella tuées est comparable à l'immunité conférée par la souche B19 vivante.

Dans ce travail, nous avons repris la souche 45/20 de McEWEN (4) dont le pouvoir immunigène, après inactivation par le formol, a été expérimenté chez le cobaye par McDIARMID et SUTHERLAND (3) et qui fait l'objet d'une expérimentation actuelle de la part de McDIARMID en Angleterre sur les bovins (*).

(*) Communication personnelle.

On sait que la souche 45/20 présente l'avantage de ne pas susciter l'apparition d'agglutinine dans le sérum des animaux vaccinés, avantage qui ne saurait échapper à l'hygiéniste désireux de mettre en œuvre une prophylaxie médico-sanitaire valable.

Les travaux de JACOTOT et VALLÉE (1, 2) ayant mis en évidence la valeur du rat blanc comme animal réactif en matière de brucellose, nous avons recherché sur cet animal la valeur immunisante de la souche 45/20 tuée par le formol et additionnée d'un excipient irrésorbable. L'influence de l'excipient en matière d'immunisation contre la brucellose ne fait plus de doute, comme l'ont du reste fort bien montré RENOUX et SACQUET (5), McDIARMID et SUTHERLAND (3).

— La valeur immunisante de la souche 45/20 tuée par le formol et en excipient irrésorbable est ici comparée aux résultats obtenus sur le rat avec la souche B19 vivante.

Matériel et méthodes :

L'expérience porte sur six lots de rats blancs comprenant huit animaux pour les cinq premiers et trois animaux pour le dernier lot.

Les animaux du lot A reçoivent par voie sous-cutanée 1 ml d'un vaccin antibrucellique commercial préparé à partir de la souche B19.

Les animaux du lot B reçoivent la même injection, mais la vaccination est répétée à huit jours d'intervalle.

Les animaux du lot C sont vaccinés par voie sous-cutanée à l'aide de 1 ml d'une émulsion microbienne ainsi composée :

- Mayoline 2214 (*) 1 partie
- Suspension contenant 200 milliards de Brucella formolée à 2 p. 1.000 au ml. 1 partie
- Jaune d'œuf (**) 1/4 partie

Les animaux du lot D reçoivent la même injection mais la vaccination est répétée à huit jours d'intervalle.

Les animaux du lot E constituent les témoins et ne sont pas vaccinés.

(*) Nous tenons à remercier la Société Esso qui a bien voulu nous remettre gracieusement un échantillon de mayoline.

(**) Malgré la présence des lécithines du jaune d'œuf, cette émulsion n'est pas stable, nous sommes parvenus depuis à réaliser une émulsion pratiquement stable grâce à l'adjonction de divers émulsionnants du type lanoline ou Arlacel.

Les animaux du lot F au nombre de trois constituent un deuxième lot témoin. Ils reçoivent 1 ml d'une suspension en eau physiologique de 100 milliards de *Brucella* 45/20 tuée par le formol (sans adjuvant). Ils sont saignés un mois plus tard pour la recherche des agglutinines sériques.

Tous les animaux des lots A.B.C.D.E. sont éprouvés trois mois après la vaccination par inoculation intrapéritonéale de 5 milliards de germes de la souche *Br. abortus* « Julie » (*).

Cette dose d'épreuve est inoculée après émulsion dans une partie de mucine au 1/20 pour une partie de suspension microbienne, selon la technique de JACOTOT et VALLÉE (1).

Les animaux survivants sont sacrifiés trois mois plus tard. On recherche les lésions éventuelles et l'on ensemence le tissu splénique. On pratique en outre sur le sérum de ces animaux une épreuve d'agglutination à l'aide de l'antigène standard du Ministère de l'Agriculture.

Notons que 14 rats sur 40 sont morts en cours d'expérience. Ces animaux étaient atteints de gale.

Résultats.

Les résultats sont consignés dans les tableaux I, II, III.

Leur examen démontre que sept témoins sur huit sont morts après l'épreuve, en présentant des lésions brucelliques.

Le premier témoin est mort trois jours après l'épreuve, le septième deux mois après. Le dernier témoin fut sacrifié le même jour que les animaux vaccinés, il présentait également des lésions.

Les lésions observées étaient variables suivant les sujets : lésions du type nodulaire siégeant sur la rate et le foie ou au contraire simple hypertrophie de la rate. Le bacille d'épreuve fut isolé à partir de la rate.

De tous les animaux vaccinés sacrifiés trois mois après l'épreuve, seul un animal du groupe A (vacciné à l'aide d'une seule injection de vaccin B19) présenta une légère hypertrophie de la rate. Le bacille d'épreuve ne put être isolé qu'à partir de cet animal. L'auto-stérilisation de l'organisme est donc relativement rapide.

(*) Nous tenons à remercier M. le Docteur JACOTOT, Chef de service à l'Institut Pasteur qui a bien voulu nous remettre cette souche, et un échantillon de mucine.

TABLEAU I

Résultats comparés des vaccinations à l'aide de la souche B19 vivante en sérum physiologique et de la souche 45/20 tuée, en adjuvant huileux.

Lots	Vaccin	Date des vaccinations	Mortalité avant épreuve (*)	Epreuve	Mortalité après épreuve (*)	Sacrificion des survivants 10-12-58
A-8 rats	B19 (1 injection)	25-6-58	1	5 × 10 ⁹ Brucella I.P. (souche Julie Dr Jacoror (+ mucine) 29-9-58)	1 (0 brucella)	6
B-8 rats	B19 (2 injections)	25-6-58 16-7-58	2		3 (0 brucella)	3
C-8 rats	54/20 (1 injection)	25-6-58 16-7-58	2		1 (0 brucella)	5
D-8 rats	54/20 (2 injections)	25-6-58 16-7-58	2		2 (0 brucella)	4
E-8 rats, lot témoin	—				7 (7 fois brucella) + lésions	1

(*) La mortalité obs avant et après l'épreuve a été favorisée par une affection parasitaire externe. ervée
Il n'a été observé aucune lésion de brucellose et aucun germe spécifique n'a pu être isolé sauf dans le lot témoin (lot E).

TABLEAU II

Contrôle bactériologique et sérologique après sacrifice des animaux en expérience.

Lots	Rats	Sacrification	Lésions	Culture	Agglutination
A	1	10- 1-59	0	0	1/40
	2		0	0	1/40
	3		0	0	1/40
	4		0	0	0
	5		Rate légèrement hypertrophiée	+	1/160
	6		0	0	0
B	1	10- 1-59	0	0	0
	2		0	0	1/20
	3		0	0	1/60
C	1	10- 1-59	0	0	1/80
	2		0	0	1/20
	3		0	0	1/20
	4		0	0	1/20
	5		0	0	1/40
D	1	10- 1-59	0	0	0
	2		0	0	1/20
	3		0	0	1/80
	4		0	0	1/40
E	1	<i>Morts de brucellose le :</i> 1-10-58	+	+	
	2	3-10-58	+	+	
	3	11-10-58	+	+	
	4	13-10-58	+	+	
	5	5-11-58	+	+	
	6	22-11-58	+	+	
	7	24-11-58	+	+	
	8	Sacrifié le 10-1-59	+	+	

Le taux d'agglutination observé dans les différents lots lors de la sacrification fut sensiblement le même et ne dépassa pas 1/80 sauf pour l'animal du lot A à partir duquel fut isolé *Br. abortus* qui présenta un taux de 1/160.

D'autre part le tableau III montre que la recherche des agglutinines dans le sérum des animaux un mois après leur vaccination s'est révélée négative.

TABLEAU III
Séro-diagnostic sur les sujets vaccinés

Lots	Rats	Vaccination	Saignée et agglutination
F	1	20-12-58	Le 20-1-59 :
	2		0
	3		0

Conclusion.

On peut conclure de cette expérience :

1° que la souche *Brucella abortus* 45/20 tuée par le formol, injectée sous forme d'émulsion dans une huile minérale, engendre chez le rat blanc une immunité au moins aussi satisfaisante dans sa solidité sinon plus, que l'immunité conférée par la souche B19 ;

2° que le résultat obtenu par deux injections de vaccin ne semble pas supérieur au résultat obtenu par une seule injection, tant en ce qui concerne la souche B19 que la souche 45/20 ;

3° que le sérum des rats — examiné un mois après la vaccination par la souche 45/20 — ne renferme pas d'agglutinines antibrucelliques.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie
de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort.
Professeur GORET.)

BIBLIOGRAPHIE

1. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — Essais comparatifs d'immunisation du rat blanc contre la brucellose expérimentale, au moyen de vaccin vivant et de vaccin tué. *Ann. Inst. Past.*, 1954, 87, 152-158.
2. JACOTOT (H.) et VALLÉE (A.). — Essai d'immunisation du rat blanc contre la brucellose. *Ann. Inst. Pasteur*, 1958, 94, 372-376.
3. McDIARMID (A.) et SUTHERLAND (F.B.). — A comparison of the immunity produced in guinea pigs by the inoculation of living heat killed and adjuvant vaccines prepared from Br. abortus strains 45/20 and S19. *Vét. Rec.*, 1957, 69, 1.067.
4. McEWEN (A.D.). — Further experiments on the infectivity of vaccine prepared from Brucella abortus strain 45/20 for cattle. *Vét. Rec.*, 1946, 58, 3-6.
5. RENOUX (G.) et SACQUET (E.). — Influence de la composition de l'excipient et du point d'inoculation sur la réaction locale au vaccin antibrucellique en excipient irrésorbable. *Arch. Inst. Past. Tunis*, 1957, 34, 347-350.
6. STABLEFORTH (A.W.). — Le contrôle de l'avortement épizootique des hovidés. *Rec. Méd. Vét.*, 1947, 123, 281-319.
7. VELU (H.) et ZOTTNER (G.). — C.R. Soc. Biol. 1958, 127, 224.

DISCUSSION

N. NÉVOT. — Je demande à M. GORET s'il n'a pas été étonné de ne pas avoir d'agglutinines ?

M. GORET. — Nous n'en sommes pas surpris. Il s'agit, en réalité, d'une souche R et les antigènes que l'on utilise pour la séro-agglutination sont toujours des antigènes de forme S. C'est comme cela que se comprend l'absence d'agglutinines.

M. NÉVOT. — Sur quoi est basée l'immunité ? ce ne sont pas des anticorps circulants.

M. GORET. — Ce sont peut-être des anticorps locaux neutralisants, c'est peut-être une prémunition comme avec la souche 19 classique... Dans certaines infections à « prémunition » il suffit parfois d'injecter trois ou quatre fois plus de bacilles tués en excipient irrésorbable que de bacilles vivants, pour obtenir une immunité.

M. NÉVOT. — Un bacille tuberculeux tué vous donnera des réactions viscérales du même type qu'un bacille tuberculeux vivant. Je suis un peu surpris par cela

M. GORET. — Dans le fond, il n'y a peut-être pas tellement de différence dans son essence entre l'immunité de prémunition et l'immunité classique.

L'immunité de prémunition est l'apanage de maladies dont l'agent causal ne peut suffisamment imprégner l'organisme pour lui donner le « souvenir » de l'infection. La présence de l'agent — vivant ou mort — devient nécessaire pour que l'organisme ne l'oublie pas...

M. JACOTOT. — La question posée par M. NÉVOT est fort complexe et m'intéresse beaucoup, mais ce n'est pas pour y répondre que je prends la parole. Je voudrais seulement dire à M. PILET qu'à mon sens, la qualification d'irrésorbable n'est pas rigoureusement exacte ici. La plupart des excipients gras ne sont pas à proprement parler irrésorbables ; ils se résorbent lentement et la lenteur de la résorption varie selon l'espèce et selon l'individu ; on ne peut même pas dire qu'il y ait corrélation constante entre la lenteur de la résorption et la stimulation de l'immunité. Seuls mériteraient d'être considérés comme irrésorbables certains excipients minéraux tels que le grès porphyrisé qui fut employé par Henri VALLÉE pour la préparation d'un vaccin contre la tuberculose, puis du vaccin contre la maladie de Johne.