

## TRAVAUX ORIGINAUX

Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 1964, 17, n° 1 (1 — 14)

# Valeur de la réaction d'hémagglutination indirecte dans la péripneumonie bovine

## Emploi d'hématies formolées, sensibilisées et lyophilisées \*

par P. PERREAU, A. PROVOST, R. REGNOULT et J. ORUE

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux  
(Laboratoires d'Alfort, Dakar-Hann et Fort-Lamy-Farcha)

### RÉSUMÉ

L'emploi d'hématies formolées, sensibilisées par le galactane de *M. mycoïdes* et lyophilisées permet d'effectuer un test d'hémagglutination passive avec une grande facilité.

Cet antigène prêt à l'emploi a une conservation excellente.

Cette méthode sérologique, éprouvée par comparaison avec la déviation du complément sur des sérums d'animaux sains et malades (naturels ou expérimentaux) a montré que les anticorps en cause avaient le même comportement que les simples agglutinines ; leur possibilité de disparition dans les cas graves ou anciens entraîne l'impossibilité d'accorder à ce test d'hémagglutination une confiance totale pour le dépistage des animaux porteurs chroniques de lésions infectées.

Ce même test semble par contre excellent pour le diagnostic des infections débutantes ou récemment installées et ses résultats concordent alors fidèlement avec ceux de la déviation du complément.

Étant donné la possibilité indubitable d'existence d'anticorps (qui semblent spécifiques) en faible quantité chez les animaux adultes sains, il est nécessaire de fixer un titre positif significatif (1/100 dans notre expérience avec l'emploi d'une suspension d'hématies à 1 p. 100).

En 1960, G. S. COTTEW (3) a décrit une méthode rapide d'hémagglutination indirecte sur lame, dont il a comparé les premiers résultats à ceux, plus classiques, de la fixation du complément et de l'agglutination simple.

A. PROVOST, toujours en 1960 (6) a essayé aussi d'apprécier la valeur de cette épreuve comme moyen de diagnostic.

Les premiers résultats étant assez encourageants, une étude plus approfondie s'imposait ; il devenait nécessaire tout au moins de tester cette méthode dans des conditions techniques précises et sur un grand nombre d'animaux.

Nous nous sommes donc attachés d'abord à définir une méthode, ce qui nous a conduit à la préparation d'un antigène standard et de conservation indéfinie ; ensuite cette méthode et cet antigène ont été mis à l'épreuve, par les laboratoires de Dakar-Hann (Sénégal) et de Fort-Lamy-Farcha (Tchad), à la fois sur des animaux d'expérience et sur des malades naturels.

Nous nous sommes donc attachés d'abord à définir une méthode, ce qui nous a conduit à la préparation d'un antigène standard et de conservation indéfinie ; ensuite cette méthode et cet antigène ont été mis à l'épreuve, par les laboratoires de Dakar-Hann (Sénégal) et de Fort-Lamy-Farcha (Tchad), à la fois sur des animaux d'expérience et sur des malades naturels.

\* Document présenté à la deuxième réunion du groupe d'Experts de la FAO/OIE/CCTA sur la Péripneumonie contagieuse bovine - Muguga - Kenya, février, 1964.

Cet antigène est une suspension d'hématies de mouton, formolées, sensibilisées par le galactane de *Mycoplasma mycoïdes* et conservées ensuite à l'état lyophilisé ; la méthode choisie est une réaction en tubes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### I. — Galactane de « *Mycoplasma mycoïdes* ».

Il est obtenu, selon la méthode de Westphal à partir de germes lavés et lyophilisés ; nous employons un antigène non purifié, c'est-à-dire qu'il contient encore de l'acide ribonucléique (5,6 à 32 p. 100 en poids selon les lots). Ce complexe polysidique est conservé desséché et au-dessous de 0°. Précisons qu'il est assez peu toxique : aux doses de 100 et 250 µg en injection intraveineuse aux lapins de 2 kg il ne provoque qu'une hyperthermie fugace de 1,5 °C, avec une leucopénie nette bien que peu intense, mais aucun des signes observés à l'habitude avec les endotoxines : prostration, tremblements, diarrhée, etc...

Le « galactane » a été choisi en raison de sa stabilité et de sa conservation indéfinie (au moins au froid).

Son activité sérologique est grande puisque 20 µg suffisent à sensibiliser parfaitement 10 ml de suspension d'hématies formolées à 1 p. 100, soit 0,1 ml de culot globulaire.

A priori, on peut penser qu'il confère à la réaction une spécificité plus grande que celle offerte par l'emploi des antigènes totaux de *M. mycoïdes* : cultures brutes, germes entiers ou lysés, extraits bruts ultrasoniques, etc...

### 2. — Préparation des hématies sensibilisées

Nous récoltons des hématies de mouton, qui, après plusieurs lavages par centrifugation, sont traitées par le formol selon la méthode de Csismas (5). Elles sont sensibilisées ensuite par mélange avec une solution de galactane à 50 µg/ml ; la proportion respectée est celle du 1/10, c'est-à-dire 1 ml de culot d'hématies pour 10 ml de la solution d'antigène.

Après un séjour de 3 heures à 4 ° C, avec agitation fréquente, la suspension est centrifugée et les hématies lavées ensuite une seule fois. Le culot est alors repris dans un égal volume de sérum physiologique ; on obtient donc une épais-

se suspension (à 50 pour 100) qui est répartie en ampoules (2ml par ampoule) et celles-ci sont placées sans délai dans les cuves d'un lyophilisateur Usifroid (type MS. 32-4). L'antigène sec est conservé au réfrigérateur à 4 °, ou mieux encore au-dessous de 0 °.

Les avantages des hématies formolées sont indéniables ; le traitement au formol permet aux globules rouges de supporter sans inconvénient la lyophilisation et aucun risque d'hémolyse n'est à craindre durant les manipulations de la réaction proprement dite.

Bien que le formol les ait physiquement transformées en particules inertes, elles conservent leur activité antigénique propre, d'où la nécessité de faire au moins un tube témoin par sérum éprouvé. Comme nous le verrons plus loin, le risque d'une réaction non spécifique due aux antigènes globulaires est pratiquement inexistant dans les conditions habituelles.

### 3. — Reconstitution de la suspension antigénique

Le culot d'hématies desséchées reçoit de l'eau distillée en quantité suffisante pour revenir au volume original de 2 ml.

La remise en suspension homogène est quelquefois assez lente ; il est bon de laisser un certain temps hématies et eau distillée en contact et d'agiter doucement avant de transvaser le contenu de l'ampoule dans un bécher contenant environ 70 ml de solution physiologique \*. L'intérieur de l'ampoule est lavé soigneusement avec cette solution et les liquides des lavages successifs sont ajoutés aux 70 ml précédents, de façon à ajuster le volume final à 100 ml.

On obtient donc 100 ml de suspension d'hématies à 1 pour 100 puisque l'ampoule contenait 1 ml d'hématies en culot.

### 4. — Choix du taux d'hématies

Le taux de 1 pour 100 a été retenu en considération de deux critères : la sensibilité de la réaction et la facilité de la lecture dans les tubes.

Alors que, dans une épreuve sur lame, il est bon d'avoir une suspension concentrée (4 pour

(\*) On peut utiliser le simple sérum physiologique, mais mieux vaut se servir d'une solution tamponnée, comme le P. B. S. de Dulbecco

100 selon COTTEW) pour avoir des agglutinats très nets, cette condition n'est nullement nécessaire en tubes étant donné que la lecture est faite bien plus par l'examen du culot globulaire que par la recherche d'agglutinats individualisés.

La suspension d'hématies à 2 pour 100 donne aussi de bons résultats, mais les titres des sérums baissent déjà d'une dilution en général, et parfois de deux.

### 5. — Exécution de la réaction

Les sérums à éprouver sont dilués en solution physiologique selon des dilutions en série de raison 2, le volume de chaque dilution étant de 0,4 ml ; on ajoute ensuite un égal volume de la suspension antigénique.

Les portoirs sont agités et laissés à la température ambiante durant deux heures ; la lecture est faite selon un système de notation à quatre croix, la dilution finale positive retenue pour titre des sérums éprouvés étant celle donnant une hémagglutination : + (c'est-à-dire à 25 pour 100).

On peut faire une seconde lecture en laissant séjourner les portoirs, agités à nouveau, au réfrigérateur durant une nuit ; la netteté de la réaction est fréquemment améliorée.

### 6. — Choix d'une réaction en tubes

Nous l'avons choisie car, seule, elle permet une appréciation quantitative exacte du titre d'un sérum ; par ailleurs, les réactions d'hémagglutination passive sur lame, telles que celle décrite par COTTEW en 1960, nous ont souvent donné de fausses réactions négatives. En effet des sérums nettement positifs selon notre méthode (ayant même de hauts titres) peuvent ne provoquer sur lame qu'une hémagglutination très fine ou à la limite de la visibilité ; dans certains cas, la dessiccation survient alors qu'on ne voit encore rien.

Ce phénomène n'est pas spécial à *Mycoplasma mycoides* ; la même source d'erreur existe avec l'hémagglutination passive employée dans la sérotypie des Pasteurella, celle-ci devant se faire en tubes et non sur lame si l'on veut avoir des résultats fidèles.

### 7. — Intérêt de la lyophilisation

Celle-ci permet une excellente conservation de l'antigène ; nous disposons d'hématies ainsi

traitées qui, remises en suspension après un an de séjour au réfrigérateur, fournissent vis-à-vis du même sérum (conservé aussi lyophilisé) le même titre. S'il est vrai que des hématies formolées normales se conservent durant des mois à 4° C en simple solution physiologique, la lyophilisation par contre assure la conservation du complexe : hématies + galactane.

Seul ce moyen a permis à un stock d'antigène d'être testé simultanément et dans les mêmes conditions au Sénégal et au Tchad ; la comparaison des résultats a été rendue possible.

Avantage pratique : chaque ampoule contient de quoi préparer par simple reconstitution 100 ml d'hématies à 1 pour 100 prêtes à l'emploi, donc de quoi garnir 250 tubes si l'on s'en tient au volume unitaire de 0,4 ml.

## RÉSULTATS

Les sérums de 1.043 bovins infectés ou sains, vivant ou non en zone d'enzootie ont été soumis simultanément à cette épreuve d'hémagglutination passive et à celle de la déviation du complément selon CAMPBELL et TURNER (2) ; les résultats suivants ont pu être acquis :

### A. — Malades expérimentaux

Il s'agit de bovins infectés expérimentalement par la voie intrabronchique.

#### 1) Phase d'état de la maladie :

On observe un excellent parallélisme entre les titres HA\* et les titres DC\*\*, leurs valeurs respectives sont du même ordre de grandeur d'une part, leurs délais d'apparition pratiquement égal d'autre part.

Le tableau n° 1 témoigne de ce parallélisme des titres :

#### 2) Malades chroniques ou porteurs de lésions :

Il s'agit d'animaux infectés par la voie bronchique, puis traités de façon ménagée par le Novarsenobenzol pour éviter l'évolution fatale et en faire des malades chroniques ou de « faux guéris » (tableau n° II).

(\*) HA : hémagglutination (suspension d'hématies lyophilisées à 1 p. 100).

(\*\*) DC : déviation du complément selon Campbell et Turner.

Il apparaît que le titre des anticorps HA ne « tient » pas aussi bien que celui des anticorps DC ; au bout de 5 mois environ, on peut donc avoir des animaux à sérologie DC +, HA — et cette constatation évoque aussitôt les résultats déjà acquis sur l'évolution du titre des agglutinines.

Dans un cas au moins, nous savons que cette disparition des anticorps HA pouvait être attribuée à un antigène soluble présent en quantité impor-

Ce sérum contenait à l'état libre l'antigène soluble de *M. mycoïdes* en quantité importante, parfaitement caractérisé par l'immunodiffusion en gélose.

## B. — Malades naturels

1) *Sur les malades à la phase évolutive de la maladie*, une très bonne concordance s'observe

TABLEAU N° I

Valeurs comparées des titres des anticorps DC et HA chez les bovins infectés expérimentalement par voie bronchique.

Numéros des animaux	Titres DC (inverse)	Titres HA (inverse)	
Zébus	F. 503	160	640
	F. 505	160	160
	F. 506	au moins 5120	5120
	F. 507	160	320
	F. 508	2560	au moins 2560
	F. 509	1280	1280
	F. 510	640	1280
Taurins	H. 2119	320	640
	H. 2153	160	320
	H. 3	640	640

tante dans le sang circulant ; il s'agissait d'un jeune zébu (F. 506), infecté par la voie bronchique et ensuite traité, dont la sérologie était caractérisée quelques semaines après l'infection par les deux titres : DC = 1/5120, HA = 0.

et les deux types d'anticorps semblent en corrélation étroite (voir tableau n° 3).

2) *Chez les anciens malades naturels*, ayant survécu grâce au traitement et vivant avec des lésions pulmonaires et parfois même avec des

TABLEAU N° II

Evolution du titre des anticorps DC et HA chez les malades expérimentaux chroniques.

Numéros des animaux	Délai après l'infection	Titres	
		DC (inverse)	HA (inverse)
N° 3	31 jours	1280	2560
	59 jours	80	320
	87 jours	160	40
	129 jours	640	40
	144 jours	80	<10
N° 86	32 jours	80	80
	64 jours	80	320
	92 jours	640	40
	127 jours	160	20
	149 jours	160	<10

signes cliniques nets bien que discrets, on trouve des titres DC tous positifs alors qu'il existe un taux important de titres HA négatifs (tableau n° 4).

On voit donc, que sur 14 animaux infectés chroniques, 5 ont des titres HA nuls ou inférieurs au 1/10 alors que tous sont classés positifs, et donc infectés, par la fixation du complément de CAMPBELL et TURNER (bien que les titres DC soient en général peu élevés).

### C. — Animaux sains

Il peut arriver que des animaux sains fournissent des hémagglutinations positives à un faible titre, la déviation du complément restant négative.

Ce phénomène sérologique a, pour l'instant du moins, deux origines :

TABLEAU N° III

Valeurs comparées des titres des anticorps DC et HA chez les malades naturels, à la phase active de la maladie.

Numéros des animaux	Titres DC (inverse)	Titres HA (inverse)
HB. 1	1280	320
HB. 2	640	10240
HB. 3	640	640
HB. 4	640	640
HB. 6	640	2560
HB.14	40	2560
HT. 1	1280	2560
F.61	2560	1280
F.63	160	320
F.64	10240	5120
F.65	1280	640
F.66	5120	2560
F.67	1280	2560
F.90	640	320
F.93	2560	5120

TABLEAU N° IV

Valeurs comparées des titres DC et HA chez des malades naturels chroniques\*

Numéros des animaux	Titres	
	DC (inverse)	HA (inverse)
1	160	2560
2	80	0 ou < 10
3	40	80
4	40	40
5	40	0 ou < 10
6	80	0 ou < 10
7	160	2560
8	160	320
9	40	0 ou < 10
10	40	160
11	80	160
12	80	40
13	80	40
14	40	0 ou < 10

\*Ces animaux ont survécu, grâce au traitement par le Novarsenobenzol, à l'enzootie de 1961

(Thiès, Sénégal)

1) L'existence d'anticorps hétérophiles anti-hématies de mouton ; ceux-ci se rencontrent peu souvent et n'ont qu'un titre assez faible.

A titre d'exemple, sur 62 sérums de zébu (animaux adultes choisis au hasard à l'abattoir de Fort-Lamy), on en trouvait huit qui agglutinaient les hématies de mouton à 1 pour 100, selon la distribution suivante :

+ 1/10 : 3      + 1/40 : 2  
+ 1/20 : 2      + 1/80 : 1

Ces agglutinines sont facilement décelées par un tube témoin sérum-hématies de mouton normales.

2) L'existence chez des animaux sains, et souvent même chez des animaux vivant en **région indemne de maladie**, d'anticorps qui semblent « spécifiques » de *M. mycoïdes* et que révèle l'hémagglutination indirecte.

Ces anticorps se rencontrent fréquemment et leur taux est en général faible (du 1/10 au 1/80 lorsqu'on emploie des hématies à 1 pour 100). Les sérums de tels animaux ne fixent pas le complément avec la méthode de CAMPBELL et TURNER ; précisons que si l'on emploie une

méthode de déviation du complément plus sensible, celle de KOLMER par exemple, on peut observer des réactions positives (du 1/10 au 1/40).

Ces anticorps paraissent spécifiques de *M. mycoïdes* ; en effet, leur absorption s'effectue très bien et de façon complète avec ce germe, alors que cette opération est impossible avec de nombreuses espèces bactériennes et d'autres mycoplasmes comme *M. laidlawi* et *M. gallinarum* (nous n'avons pas encore essayé avec *M. mycoïdes* var. *capri*). Sans doute ces anticorps sont-ils les mêmes que ceux étudiés récemment par COTTEW (4) au moyen de leur action inhibitrice sur les cultures de *M. mycoïdes* ; leur origine n'est pas encore expliquée.

Il est certain qu'ils n'existent pas chez les jeunes veaux, mais qu'on a toutes les chances d'en trouver chez des animaux de boucherie, par conséquent assez âgés ; ces anticorps seraient donc acquis au cours de la vie et l'on est obligé de penser ici à l'intervention de mycoplasmes saprophytes ou de microorganismes possédant des antigènes communs. A moins qu'il ne s'agisse tout simplement d'une substance antigénique d'origine végétale, donc absorbée avec les aliments.

TABLEAU N° V

Evolution du titre des anticorps DC et HA après vaccination par le vaccin d'ovoculture

N°s des animaux	690		1104		1105		1106		1185		1197		1200	
Titres (inverses)	DC	HA	DC	HA	DC	HA	DC	HA	DC	HA	DC	HA	DC	HA
Avant vaccination	20	20	10	20	20	80	20	20	40	40	20	80	NF*	NF
2 jours après	10	20	10	20	10	80	80	160	20	160	40	80	40	40
9 jours après	160	160	40	160	40	320	40	320	40	320	40	320	40	320
16 jours après	160	160	40	80	40	80	80	80	50	320	160	320	40	320
32 jours après	320	320	80	80	40	160	320	160	160	320	80	160	160	320
39 jours après	40	40	40	40	80	320	80	80	NF	NF	10	40	20	80
46 jours après	40	160	40	320	80	20	80	40	80	320	80	320	40	160
53 jours après	80	160	80	80	40	40	80	80	80	80	160	160	20	40

NE : La méthode de déviation du complément utilisée pour cette expérience est celle de Kolmer ; les titres obtenus ne sont donc pas comparables à ceux qui sont consignés dans les autres tableaux.

On voit cependant qu'avant la vaccination aucun de ces animaux n'atteint un titre significatif, soit en DC (il faudrait 1/80), soit en HA (il faudrait le 1/100).

\* NF = test non effectué.

TURNER (7) a montré qu'*Actinobacillus lignieres* pouvait être à l'origine de telles réactions d'agglutination positives, alors que la réaction de fixation du complément demeurait négative ; il est impossible de croire que ce germe soit toujours en cause chez les nombreux animaux qui possèdent ces caractéristiques sérologiques.

#### D. — Animaux vaccinés

La vaccination, effectuée chez le zébu avec un vaccin d'ovoculture, entraîne l'apparition d'anticorps DC et HA dont les titres sont en bonne concordance (voir tableau n° 5).

Ces derniers sont peu élevés, comme c'est la règle après une vaccination ; la réponse sérologique est très nette au 9<sup>e</sup> jour qui suit l'intervention.

#### DISCUSSION

Que faut-il donc penser de cette méthode d'hémagglutination indirecte ?

1) Ces « hémagglutinines » semblent bien se comporter comme les agglutinines et il est vraisemblable qu'il y a identité entre ces deux types d'anticorps.

Alors qu'ils fournissent des renseignements précieux lorsqu'il s'agit d'animaux en phase initiale ou en phase d'état de la maladie, en concordance avec les anticorps fixant le complément, ils peuvent diminuer et même disparaître chez les infectés chroniques, les porteurs de lésions étendues et les animaux « blanchis » par un traitement et nous trouvons là une bonne confirmation des observations de CAMPBELL (1) et de TURNER (7).

Il s'ensuit qu'on ne pourra accorder une grande confiance à cette méthode pour le dépistage des animaux les plus dangereux, les porteurs de lésions anciennes et discrètes, qui n'offrent pas de signes cliniques.

Applicable seulement en cas d'infection évolutive, ce test peut cependant rendre service notamment pour la surveillance sérologique d'animaux sains et le diagnostic de la maladie dans les foyers récents. Dans ces cas précis, elle possède avant tout l'avantage pratique de la simplicité sur la déviation du complément ; avec un antigène très standardisé comme celui que nous

avons essayé, il n'y a aucun contrôle ni aucun titrage préalable et l'exécution peut être confiée à un personnel non spécialisé.

2) Le diagnostic de la péripneumonie par ce test reste sûr, car la spécificité du galactane de *M. mycoïdes* nous apparaît bonne et il ne semble pas que des réactions croisées soient à craindre, tout au moins des réactions ayant un titre positif élevé.

A titre d'exemple, voici les résultats comparés des examens par les deux méthodes (HA et DC) de 543 sérums de bovins guinéens, n'ayant jamais été vaccinés et venant d'une région considérée comme indemne de péripneumonie.

543 animaux	}	476 à DC et HA négatives, donc à considérer comme sains.
		62 à DC négative, à HA positive ; les titres de celle-ci vont du 1/10 au 1/40 et ne sont donc nullement significatifs (zone des réactions non spécifiques). Ces animaux sont à considérer comme sains.
		5 à DC et Ha positives ; les titres DC vont du 1/10 au 1/40 et les titres HA du 1/80 au 1/160. Ces animaux sont à éliminer.

Trois animaux sur ces cinq derniers ont été abattus ; sur un seul on pouvait observer des lésions évidentes de péripneumonie, mais sur les deux autres l'appareil pleuro-pulmonaire semblait intact.

Un examen minutieux et des cultures sur milieu approprié auraient été nécessaires ; en effet, avec ces titres (1/10 à 1/40), l'interprétation de la méthode de CAMPBELL et TURNER est formelle : ces animaux étaient infectés.

Si l'on admet qu'il s'agissait là de réactions non spécifiques, la concordance DC-HA n'en était pas moins excellente.

Des sérums pasteurelliques (types A, B, D, E), salmonelliques (*S. dublin*), brucelliques (*B. abortus bovis*), leptospirosiques (*L. bovis* et *grippotyphosa*) et streptothricosiques (*D. congolensis*),

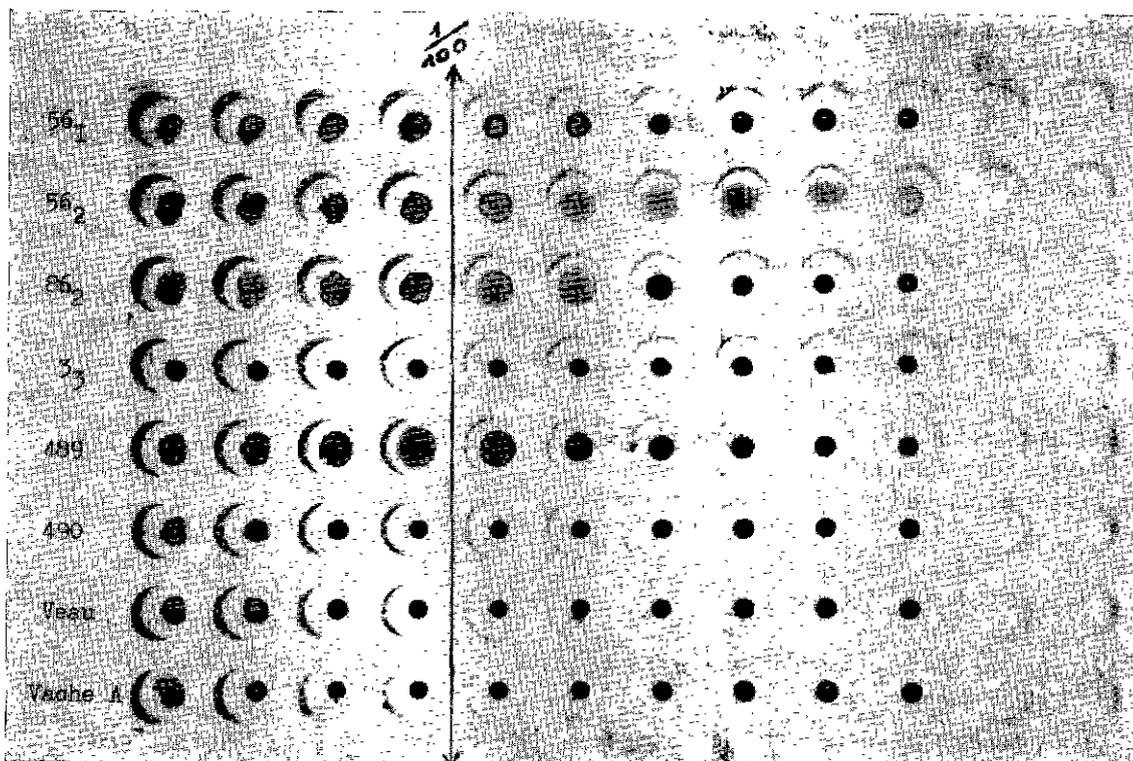


Figure 1. — Hémagglutination sur plaque de Plexiglas.

1) La dilution initiale de sérum est au 1/10 ; on voit ici que 3 sérums (56<sub>2</sub>, 86<sub>2</sub> et 489) dépassent le 1/100.

Le sérum 56<sub>2</sub>, positif au 1/2560 (+++), est celui d'un malade évolutif ; les sérums 86<sub>2</sub> et 489, respectivement positifs au 1/320 et au 1/160, doivent être considérés comme ceux d'animaux infectés (infection de début ou infection en voie de passage à la chronicité).

Le sérum 56<sub>1</sub> n'est nettement positif qu'au 1/80, ce qui est sans signification.

2) Si le fond des alvéoles n'est pas parfaitement propre ou s'il n'est pas régulièrement hémisphérique (c'est le cas c), on peut observer des culots d'hématies en anneau, correspondant à des réactions parfaitement négatives (vache A).

ayant tous de hauts titres n'ont fourni aucune réaction positive avec des hématies lyophilisées.

Seule pourrait interférer une autre infection à *Mycoplasma* et VILLEMOT et PROVOST (9) ont déjà mis en cause l'intervention d'autres mycoplasmes (*M. laidlawi*, *bovigenitalium* et *hominis*) pour expliquer, sur la base de communautés antigéniques, de fausses réactions positives d'agglutination sur lame.

La spécificité du complexe polysidique de *M. mycoides* vis-à-vis des autres espèces de mycoplasma est d'ailleurs à l'étude.

Quoi, qu'il en soit, la présence possible, chez les animaux sains, d'anticorps « spécifiques » en faible quantité (1/80 au maximum avec les

hématies à 1 pour 100) d'une part, la constance des hauts titres chez les animaux au début ou à la phase d'état de la maladie d'autre part, font que nous avons adopté pour l'instant le titre du 1/100 (en dilution terminale) comme titre significatif.

Au-dessous de ce seuil, l'interprétation est impossible ; au-dessus, l'animal est suspect et dès que le titre atteint le 1/200, le diagnostic est acquis ; telle est la règle que nous avons pu dégager de nos examens.

On pourra donc, dans les dépistages de masse, effectuer une première sélection des animaux en effectuant la réaction en un seul tube (sérum au 1/50 + égal volume d'antigène, donc dilution terminale du sérum : 1/100).

Si on emploie une suspension d'hématies à 2 pour 100, ces titres sont abaissés d'une dilution au moins et on doit fixer le titre significatif à 1/50.

3) La facilité de lecture de la réaction exige de disposer de tubes à fond très rond et très propre ; sinon les hématies non agglutinées ont peu tendance à s'accumuler au centre de celui-ci et il est fréquent d'observer des culots globulaires en anneau. Il s'ensuit que le passage du dernier tube franchement positif au premier nettement négatif semble traîner et se faire par deux ou trois tubes intermédiaires ; le titre de positivité est alors peu commode à déterminer.

Au lieu de tubes, il est possible et souvent même très commode de se servir des plaques en Plexiglas (Altuglas, Perspex, Lucite) que chacun

connaît et qui sont surtout utilisées pour la sérologie des maladies à virus.

Il en existe de nombreux modèles ; tous donnent satisfaction, mais nous devons souligner le grand intérêt qui s'attache à l'emploi de plaques dont les alvéoles ont un *fond conique*. La netteté de la lecture est très améliorée, car les hématies non agglutinées glissent sur la pente basale pour s'accumuler en un culot très rond et très dense.

Les plaques destinées aux micro-méthodes sérologiques peuvent être précieuses lorsqu'on éprouve un grand nombre de sérums ; nous nous sommes servis des plaques dites de Takatsy à fond conique (commercialisées aux U. S. A. et en France) et la réaction s'y effectue avec : 0,05 ml. d'antigène + 0,05 ml. de sérum (Voir fig. 1).

### SUMMARY

**The value of the indirect haemagglutination on reaction in C. B. P. P. using RCB's formolnized, sensitised and lyophilised as the antigen.**

A most useful indirect haemagglutination test for C. B. P. P. can be performed using antigen consisting of formolnized R. B. C.'s sensitised with galactane endotoxin of *M. mycoides* and then lyophilised.

Conservation of this prepared antigen is excellent.

Comparison of the serological test using this antigen, with the complement fixation test, and sera from both healthy and infected animals has shown that the specific antibodies react similarly to simple agglutinins. Since free antibodies disappear in severe cases or in very old cases, it is not possible to be completely confident of results with this test in detection of chronic cases with infective lesions.

The test, however, is excellent in fresh cases and the results are very closely comparable with that with the complement fixation test.

Since it is necessary to take into account the existence of antibodies (which appear specific) in low titres in adult animals, apparently healthy, it is necessary to fix a minimum titre which will signify infection. We have accepted 1/100 in our experiments using a 1 p. 100 suspension of this particular antigen.

### RESUMEN

**Valor de la reacción de hemaglutinación indirecta en la peripneumonía bovina. — Empleo de hematías formoladas, sensibilizados y liofilizados.**

El empleo de hematías formoladas, sensibilizados por el galactan de *Mycoplasma mycoides*, y liofilizados, permite de hacer con gran facilidad un test de hemaglutinación pasiva.

Este antígeno, dispuesto para ser empleado, presenta la ventaja de una conservación excelente.

Este método serológico, comprobado por comparación con la desviación de complemento en sueros de animales sanos y enfermos (naturales y experimentales) ha demostrado que los anticuerpos en cuestión tenían el mismo comportamiento que las simples aglutininas ; pero la posibilidad de su desaparición en

casos graves o antiguos, trae consigo la imposibilidad de dar a este de hemaglutinación una confianza total para el diagnóstico en animales portadores de lesiones crónicas infectadas.

Este mismo test, por el contrario, parece dar excelentes resultados en el diagnóstico de infecciones incipientes o de reciente instalación, y sus resultados son en este caso comparables a los obtenidos por la desviación del complemento.

Teniendo en cuenta, además, de la presencia en la sangre de animales adultos sanos, de anticuerpos (que parecen específicos) en débil concentración, es necesario fijar un título significativo positivo (en nuestra experiencia, con el empleo de una suspensión de hemates al 1 p. 100).

---

### BIBLIOGRAPHIE

- CAMPBELL (A. D.) — *J. Coun. Sci. industr. Res. Aust.* (1938) **11** : 112.
- CAMPBELL (A. D.) and TURNER (A. W.) — **Studies on contagious pleuropneumonia of cattle IV. An improved complement fixation test.** *Aust. vet. J.* (1953) **29** : 154-163.
- COTTEW (G. S.) — **Indirect haemagglutination and haemagglutination inhibition with *Mycoplasma mycoïdes*.** *Aust. vet. J.* (1960) **36** : 54-56.
- COTTEW (G. S.) — **Inhibition of growth of *Mycoplasma mycoïdes* by bovine sérum.** *Rev. vet. Sc.* (1963) **4** : 459-470.
- CSIZMAS (T.) — *Proc. Soc. Exp. Biol. Méd.* (1960) **103** : 157.
- PROVOST (A.) — In Rapport annuel (1960) du Laboratoire de Farcha-Fort-Lamy, I. E. M. V. P. T.
- TURNER (A. W.) — **Les méthodes de prophylaxie contre la péripneumonie contagieuse des bovidés en Australie.** *Bull. Off. int. Epiz.* (1956) **46** : 382-403.
- TURNER (A. W.) — **Circulating *M. mycoïdes* antigen as a cause of loss of agglutination and complement fixation reactivity during acute pleuropneumonia.** *Aust. vet. J.* (1962) **38** : 401-405.
- VILLEMOT (J. M.) et PROVOST (A.) — **Recherches immunologiques sur la péripneumonie. V. Relations antigéniques entre *Mycoplasma mycoïdes* var. *mycoïdes*, *M. mycoïdes* var. *capri* et d'autres micro-organismes du genre *Mycoplasma* (souches génitales bovines et humaines).** *Rev. Elev. Méd. vét. Pays. trop.* (1959) **12** : 251-266.
-