

Le test d'allergie et le diagnostic de la péripneumonie bovine

II. — Essais sur les bovins du Sénégal, malades naturels et infectés artificiels

par M. DOUTRE, P. PERREAU et J. CHAMBRON

Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux
(Laboratoires de Dakar-Hann et de Maisons-Alfort)

RÉSUMÉ

Au cours de 5 expériences effectuées sur des bovins du Sénégal, sensibilisés artificiellement ou par la maladie naturelle, en employant les antigènes décrits dans l'article précédent, les auteurs essaient de déterminer si l'on retrouve chez ces bovins (zébus et métis zébu-taurin) les mêmes caractères de la réaction d'hypersensibilité que ceux observés sur les animaux de laboratoire et qui sont le propre de l'allergie de type Arthus.

Celle-ci se retrouve effectivement sur les bovins et l'existence d'une hypersensibilité de type retardée ne peut être prouvée formellement.

Les fortes réactions cutanées semblent n'apparaître qu'avec l'emploi d'antigènes concentrés, à forte teneur en lipopolyside.

Les possibilités de l'emploi d'un test d'allergie pour le diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine sont discutées.

Une des recommandations formulées par le groupe d'experts F. A. O./O. I. E./C. C. T. A. sur la péripneumonie bovine tenue à Muguga en février 1964 soulignait la nécessité de poursuivre les recherches sur la possibilité d'utiliser la réaction d'allergie dans le diagnostic de l'affection. Cette recommandation était la suite logique de l'exposé des travaux de R. N. GOURLAY (5).

Il n'est pas besoin en effet d'insister sur l'importance que pourrait avoir une méthode supplémentaire de diagnostic de la péripneumonie contagieuse des bovidés, puisque le dépistage des animaux infectés chroniques et porteurs de germes constitue la difficulté majeure des opérations de prophylaxie.

Aussi les antigènes, dont la préparation vient d'être décrite dans l'article précédent, ont-ils

été éprouvés sur des bovins africains, malades naturels et infectés artificiels.

Nos observations et nos conclusions sont rapportées dans cet article.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. **Animaux** : les animaux d'expérience du laboratoire de Hann étaient des métis zébu gobra-taurin N'Dama ; les malades naturels étaient des zébus gobra purs (race blanche du Djoloff).

2. **Antigènes** :

Les antigènes employés furent les lots n^{os} 3 (avec urée), 4 (avec urée), 5 (sans urée, pur

et à la dilution 1/2) et 6 ; à titre comparatif, furent aussi utilisés une solution de galactane à 1 mg/ml et un échantillon de l'antigène original de R. N. GOURLAY (*).

Les pH de ces différents antigènes étaient tous compris entre 6,9 et 7,2.

3. Techniques sérologiques.

Les sérums des animaux d'expérience furent éprouvés par les procédés suivants :

a) Déviation du complément : technique de Kolmer, avec un antigène préparé selon la méthode de Campbell et Turner.

b) Hémagglutination passive : avec des hématies de mouton lyophilisées et sensibilisées par le galactane de *M. mycoides*, selon une méthode déjà décrite (9).

c) Précipito-diffusion en gélose : effectuée en boîte de Pétri contenant de la gélose noble Difco à 1 p. 100 dans un tampon véronal à pH 7,3-7,4.

d) Précipitation interfaciale en milieu liquide : recherche d'un anneau de précipitation dans des tubes de 3 mm de diamètre où l'on superpose les sérums des bovins et chacun des 2 antigènes employés (galactane et antigène protéique).

4. Protocole des tests d'allergie.

Ils seront décrits pour chacune des expériences.

RÉSULTATS

Expérience n°1 : Animaux infectés artificiellement.

14 bovins furent infectés expérimentalement par intubation intrabronchique (30 ml d'une culture de la souche B. 17 de *M. mycoides*) ou par inoculation sous-cutanée (1 ml de cette même culture). Pour ces derniers animaux, l'extension de la réaction locale avait été arrêtée par un traitement au Novarsenobenzol.

9 autres bovins servirent de témoins : 3 étaient des animaux « récepteurs » d'une expérience de transmission de la maladie par contact et qui n'avaient pas contracté l'infection et 6 étaient des animaux neufs.

(*) Nous remercions très vivement de son obligeance notre confrère R. N. GOURLAY, qui a bien voulu nous fournir cet échantillon.

Protocole : ces animaux reçurent par voie intradermique, au 1/3 supérieur de la face de l'encolure et en 3 points différents, les antigènes nos 3 U, 4 U et celui de GOURLAY, sous le volume unitaire de 0,1 ml.

Les poils furent coupés aux ciseaux aux lieux d'inoculation et l'épaisseur du pli cutané mesurée au pied à coulisse aux temps : 0, 24, 48 et 72 heures, le temps 0 étant celui des injections.

Les tableaux nos 1 et 2 rendent compte des délais entre l'infection et l'épreuve d'allergie des sérologies au jour de l'épreuve et des mesures de l'épaississement cutané en fonction des antigènes :

Commentaires :

1) Les trois antigènes fournissent des épaisissements cutanés du même ordre chez un même animal ; à remarquer que l'antigène de GOURLAY semble donner pour quelques animaux, une réaction plus nette (tout au moins une augmentation plus importante de l'épaisseur de la peau). C'est le cas des bovins nos 941 et 999 et dans une moindre mesure, des nos 313 et 3487.

2) Sans tenir compte de la nature de l'antigène l'ensemble des mesures montre que le maximum de la réaction est atteint 24 heures après l'injection intradermique dans 65 p. 100 des cas, 48 heures après dans 23 p. 100 des cas, les 12 p. 100 restants représentant les cas où l'épaisseur du pli n'a pas varié entre les deux mesures.

3) Aucun épaisissement n'a atteint le centimètre (8,5 mm pour l'animal n° 999, au bout de 48 heures, constituent le maximum observé).

4) Il n'y a aucune réaction vraiment nulle ; le traumatisme de l'injection et l'action irritante propre des antigènes font qu'on observe toujours un épaisissement pouvant atteindre plusieurs millimètres et l'on conçoit bien que GOURLAY s'en tienne à un seuil significatif de 4 mm ; c'est une norme qui se vérifie assez bien ici, puisque chez les témoins négatifs, seuls les bovins nos 968 et 988 atteignent respectivement 4,5 et 4,25 mm en épaisissement maximum et pour un seul antigène (3 U).

5) Il n'apparaît aucune corrélation entre le titre des anticorps fixant la déviation du complément et l'importance de la réaction allergique.

TABLEAU N° I

Expérience n° 1: animaux infectés artificiellement

N° des animaux	Délai entre l'infection et le test aller- gique	Déviation du complément	Antigènes employés	Epaississement cutané (en mm)			
				après 24 heures	après 48 heures	après 72 heures	
Infection par la voie bronchique	1 mois	1/160 ++++	3 (urée)	2,0	2,0	2,0	
			4 (urée)	2,5	2,75	1,75	
			Gourley	4,5	3,5	2,25	
		négatif	3 "	2,5	2,25	2,0	
			4 "	3,5	2,0	1,25	
			G "	2,25	1,75	1,25	
	1/160 ++++	3 "	1,0	0,75	0,75		
		4 "	2,5	2,0	1,75		
		G "	2,75	1,5	1,0		
	4 mois	Déviation du C'	3489	3 "	2,75	2,5	1,25
				4 "	2,0	1,5	1,0
				G "	1,5	1,25	1,0
3456			3 "	2,75	2,25	2,0	
			4 "	2,0	1,5	1,0	
			G "	1	1,0	0,25	
3484	3 "	1,75	1,25	0,75			
	4 "	1,25	0,75	0,25			
	G "	1,0	0,5	0,5			
3487	3 "	2,5	3,5	2,5			
	4 "	5,0	5,25	3,75			
	G "	6,25	6,75	5,25			
	Infection par la voie sous-cutanée	1 mois	1/40 ++++	3 "	2,25	4,0	3,5
4 "				3,0	2,0	1,25	
G "				7	7,5	4,0	
1/40 ++++			3 "	3,5	3,0	2,5	
			4 "	4,0	2,25	1,5	
			G "	4,25	3,50	2,25	
1/20 ++++			3 "	5,25	5	3,25	
			4 "	7,0	5,5	4,0	
			G "	6,25	5,5	3,0	
1/320 ++++			3 "	1,75	1,25	1,0	
			4 "	2,0	1,25	1,0	
			G "	2,25	1,75	1,25	
1/1280 ++++	3 "	2,75	2,75	2,25			
	4 "	2,0	1,75	1,0			
	G "	3,0	2,25	1,0			
1/10 ++++	3 "	4,75	4,25	3,25			
	4 "	3,25	3,25	2,25			
	G "	8,0	8,50	6,25			
1000	1/5 ++++	3 "	2,0	2,5	1,25		
		4 "	0,25	1,75	0		
		G "	2,75	2,25	2,0		

TABLEAU N° II

Animaux témoins de l'expérience n° 1

N° des animaux	Antigènes	Épaississement cutané (en mm)		
		après 24 heures	après 48 heures	après 72 heures
319	3 (urée)	2,25	2,5	2,5
	4 (urée)	2,25	2	1,5
	Gourlay	1,0	0,5	0,75
206	3 "	3,0	2,25	1,75
	4 "	2,5	2,0	1,25
	G "	2,75	2,25	2,0
963	3 "	1,75	2	1,75
	4 "	1,5	1,25	0,75
	G "	0,75	0,25	0,25
968	3 "	4,5	2,5	1,5
	4 "	2,0	1,0	0,5
	G "	0,5	0,0	0
988	3 "	4,25	3,75	2,5
	4 "	2,75	2,75	1,5
	G "	0,75	1,0	0,5
966	3 "	1,25	1,75	
	4 "	1,75	1,75	
991	3 "	2,5	3,0	
	4 "	2,5	3,5	
992	3 "	0,75	2,5	
	4 "	1,75	1,5	
989	3 "	3,5	3,75	
	4 "	2,0	1,75	

Expérience n° 2 : Animaux infectés artificiellement.

Elle fut effectuée avec des bovins sensibilisés :

a) Par inoculation sous-cutanée de la souche Sankhaye, 39 jours plus tôt pour les bovins n° 968, 1999, 989 et 24 jours avant pour le n° 236.

b) Par inoculation intrabronchique de 30 ml d'une culture virulente de la même souche pour les bovins n° 991, 966, et 992. L'intubation avait été réalisée 39 jours avant la réaction allergique.

Protocole :

Pour éliminer un phénomène d'hypersensibilité immédiat de type anaphylactique analogue à celui observé chez les lapins sensibilisés, les n°s 968, 1999, 236 et 966 reçurent une première injection de 10 ml de Phénergan (*) par voie intraveineuse suivie 4 heures après d'une injection intramusculaire de 5 ml. Les n°s 989, 991 et 992 ne furent pas traités au Phénergan.

(*) Phénergan Specia (prométhazine), soluté à 2,5 p. 100

Les inoculations, intradermiques commencèrent une demi-heure plus tard. Ces dernières eurent lieu à la face interne du pli sous-caudal, en utilisant comme antigène une solution de galactane à 1 mg/ml (Ga) à droite et la fraction protéique n° 5 diluée au 1/2 (F 5/2) à gauche. L'épaisseur des deux plis fut appréciée au pied à coulisse 1, 2, 3, 4, 5, 8, 12, 24 et 34 heures après les inoculations intradermiques.

Si, à partir de cet essai, nous avons abandonné comme lieu d'élection la face latérale de l'encolure, c'est uniquement pour ne pas se contenter de la mesure au pied à coulisse ; la peau fine et glabre du pli sous-caudal permet d'observer les caractères et la cinétique de la réaction beaucoup mieux que la peau du cou.

Le tableau n° 3 rend compte de l'ensemble des mesures effectuées aux divers temps :

Commentaires :

1) Les réactions locales furent, pour l'ensemble des animaux, très légères et sans point de nécrose centrale. Pour le n° 989 avec la solution

TABLEAU N° III

Expérience n° 2: animaux infectés artificiellement

N° des animaux	Déviation du complément	Antigènes	Épaississement de la peau en mm, après les délais suivants (en heures)									
			1	2	3	4	5	8	12	24	34	
traités au Phénergan	968 1/80 +++ 1/160 ++	Ga	0,5	0,5	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5	
		F _{5/2}	0	0	0,75	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	
	1999	1/20 +++	Ga	1	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	1,5	1,75	2,0
			F _{5/2}	0,25	1,5	1,5	1,5	2,0	1,5	1,5	2,0	1,5
	236	1/10 +++ 1/20 ++	Ga	1,5	1,5	1,5	1,5	0,75	1,0	1,0	1,0	1,0
			F _{5/2}	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,75	0,5
	966	1/10 +++	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	0	0	0
			F _{5/2}	0	0	0	0,25	1,0	1,0	0	0	0
non traités au Phénergan	989 1/80 +++ 1/160 ++	Ga	0	0	0,25	0,25	0	0	0	0	0	
		F _{5/2}	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	
	991	1/10 +++	Ga	0,25	0,25	0,25	1,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
			F _{5/2}	0	0	0,25	0,25	0	0,25	0,25	0,5	0,5
	992	1/10 +++	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0	0	0
			F _{5/2}	0	0	0	0,25	1	1	0	0	0

de galactane comme antigène, on note l'apparition d'un petit œdème dès la 2^e heure qui disparaît en 5 heures ; pour le n° 236, avec le même antigène, on enregistre un léger œdème visible dès la 2^e heure et se maintenant 24 heures ; pour le n° 966 à la 5^e heure, un léger œdème est visible au lieu d'inoculation de F 5/2 et dure environ 12 heures.

Les réactions les plus sensibles, égales pour les 2 antigènes, furent observées chez le bovin 1999, elles furent maximales à la 5^e heure et discernables jusqu'à la 36^e heure.

Sur la base de la déviation du complément, les nos 968 et 989 auraient été déclarés infectés ; le test d'allergie, par contre, fait considérer tous les animaux comme négatifs.

2) On ne note aucune différence significative entre les animaux qui ont été traités au Phénergan et ceux qui n'ont pas été traités, les réactions

étant de faible intensité et fugaces ; ces conditions ne permettent pas la mise en évidence d'une action possible de l'antihistaminique.

3) On ne peut que constater, comme dans l'expérience précédente, la faible réponse sérologique aux infections artificielles. Les animaux infectés par la voie bronchique, s'ils n'avaient pas contracté de péripneumonie évolutive, avaient cependant tous, vers le 15^e jour après l'intubation, de l'hyperthermie et des signes respiratoires à l'auscultation.

Il semble bien qu'ici apparaisse nettement l'insuffisance de la culture en bouillon, lorsqu'on veut transmettre par la voie bronchique une péripneumonie évolutive.

4) Le peu d'ampleur des réactions cutanées ne permet pas de comparer avec fruit les rôles respectifs du galactane et de la fraction protéique n° 5.

Expérience n° 3 : Animaux infectés naturellement (2^e foyer de Sebikotane).

Les animaux appartenant à un troupeau où sévissait la maladie naturelle. Au moment du test, la sérologie de ces bovins était la suivante :

Protocole :

Les n°s 1949, 1989, 1946 et 1948 reçurent deux injections de Phénergan dans les mêmes conditions que lors de l'expérience n°2. Les n°s 1947, 1944, 1943 et 1940 ne reçurent pas de Phénergan.

N° des animaux	Déviation du complément	Hémagglutination passive	Précipitation interfaciale	
			galactane	F ₅
1940	1/640 +++++	1/2.560 +++++	+	+
1943	1/10 +	1/20 +++++	0	0
1944	1/320 +++++	1/1.280 +++++	+	+
1946	1/80 +++++	1/2.560 +++++	+	+
1947	1/320 +++++	1/1.280 +++++	+	+
1948	1/20 +++++	1/160 ++	+	+
1949	0	1/10 traces	0	0
1989	1/1.280 +++++	1/10.240 +++++	+	+

Les antigènes furent, comme précédemment, la solution de galactane (1 mg/ml) et la fraction protéique F 5/2.

Les inoculations intradermiques furent effectuées au pli sous-caudal à droite (Ga) et à gauche (F 5/2). Les augmentations d'épaisseur furent mesurées au pied à coulisse 1, 2, 3, 4, 5, 9, 13, 24, 36 et 48 heures après les injections.

L'ensemble des mesures est rapporté dans le tableau IV.

Commentaires :

1) Les réactions cutanées sont de peu d'intensité, mais l'observation de leurs caractères et de leur évolution est cependant éloquente ; les notes suivantes en témoignent :

N° 1946 : Galactane : à la 9^e heure, œdème net, dur, sans nécrose centrale, persiste à la 13^e heure, disparu à la 24^e heure.

F 5/2 : à la 9^e heure, œdème identique qui disparaît dans le même temps.

N° 1948 : Galactane : dès la 2^e heure, œdème dur, persiste jusqu'à la 24^e heure.

F 5/2 : dès la 3^e heure, léger œdème disparu à la 24^e heure.

N° 1949 : Galactane : à la 9^e heure, œdème en papule de 9 à 12 mm de diamètre, surélevé de 2

à 4 mm et légèrement congestionné sans point de nécrose, disparition dans les 24 h.

F 5/2 : à la 9^e heure, même œdème, avec un centre rose. A noter que la sérologie de cet animal est pratiquement négative.

N° 1989 : Galactane : à la 9^e heure, œdème avec commencement de nécrose.

F 5/2 : réaction peu visible.

N° 1940 : Pratiquement aucune réaction visible au point d'inoculation des deux antigènes ; Il y a discordance avec les tests sérologiques.

N° 1943 : Absolument aucune réaction locale. Cet animal n'était certainement pas atteint. Le test allergique est en parfait accord avec les tests sérologiques.

N° 1944 : Galactane : on note une papule dès la 4^e heure, avec un maximum à la 13^e heure, sans nécrose ; ensuite, régression rapide.

F 5/2 : rien de bien visible.

N° 1947 : Seul le galactane donne une très légère réaction œdémateuse dès la première heure, imperceptible au bout de 24 heures.

TABLEAU N° IV

Expérience n° 3: animaux naturellement infectés (2ème foyer de Sebikotane)

N° des animaux	Antigènes	Epaississement cutané en mm, après les délais suivants (en heures)										
		1	2	3	4	5	9	13	24	36	48	
Traités au Phénergan	1946	Ga	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	0	0
		F _{5/2}	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,25	1,25	0,5	0	0
	1948	Ga	1	3,5	3,5	3,0	3,0	3,5	3,0	3,0	3,0	1,0
		F _{5/2}	0	0	1,0	1,0	1,0	1,25	1,0	1,0	0,5	0,5
	1949	Ga	2,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,0	3,0	2,0	2,0	1,5
		F _{5/2}	1,5	2,0	1,5	2,0	2,0	1,5				
	1989	Ga	0	0	0	0	0	0,5				
		F _{5/2}	0	0	0,5	0,5	0,5	1	0,75	0,5	0,5	0,5
Non traités au Phénergan	1940	Ga	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		F _{5/2}	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
	1943	Ga	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		F _{5/2}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1944	Ga	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
		F _{5/2}	0,5	0,75	0,75	0,75	0,75	1,5	0,75	2,5	2,0	1,0
	1947	Ga	1,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,0	2,0	2,0	2,0	0,5
		F _{5/2}	1,0	1,5	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,5	0,5

2) Ces réactions d'hypersensibilité, nettement identifiées par leur aspect de papule œdémateuse, apparaissent dans les heures qui suivent l'injection intradermique et entrent en régression le plus souvent avant la 24^e heure. Elles évoquent toutes le phénomène d'Arthus.

3) L'examen histologique de ces réactions contribue encore à renforcer cette opinion.

Sur les animaux nos 1949 et 1989, une biopsie fut effectuée à la 9^e heure, au lieu d'inoculation de l'antigène protéique (F_{5/2}) pour le premier et à celui du galactane pour le second.

Comme le montrent les photos nos 1, 2, 3, 4 et 5, le phénomène dominant est l'infiltration massive du derme par les leucocytes polynucléaires sortis des vaisseaux ; les lésions vasculaires sont moins nettes, mais l'altération

des parois des capillaires se reconnaît néanmoins à l'aspect œdématisé de certaines d'entre elles ; dans la lumière de quelques vaisseaux, on peut identifier clairement le phénomène de thrombose débutante.

Cette image histologique parfaitement établie à la 9^e heure correspond à l'aspect microscopique habituel du phénomène d'Arthus.

4) Ici encore, on ne peut attribuer au Phénergan une influence quelconque.

Expérience n° 4 : Animaux infectés naturellement (2^e foyer de Sebikotane).

Cet essai, que nous ne rapportons pas en détail, fut effectué sur 6 animaux à sérologie très positive qui étaient des malades ou infectés authentiques.

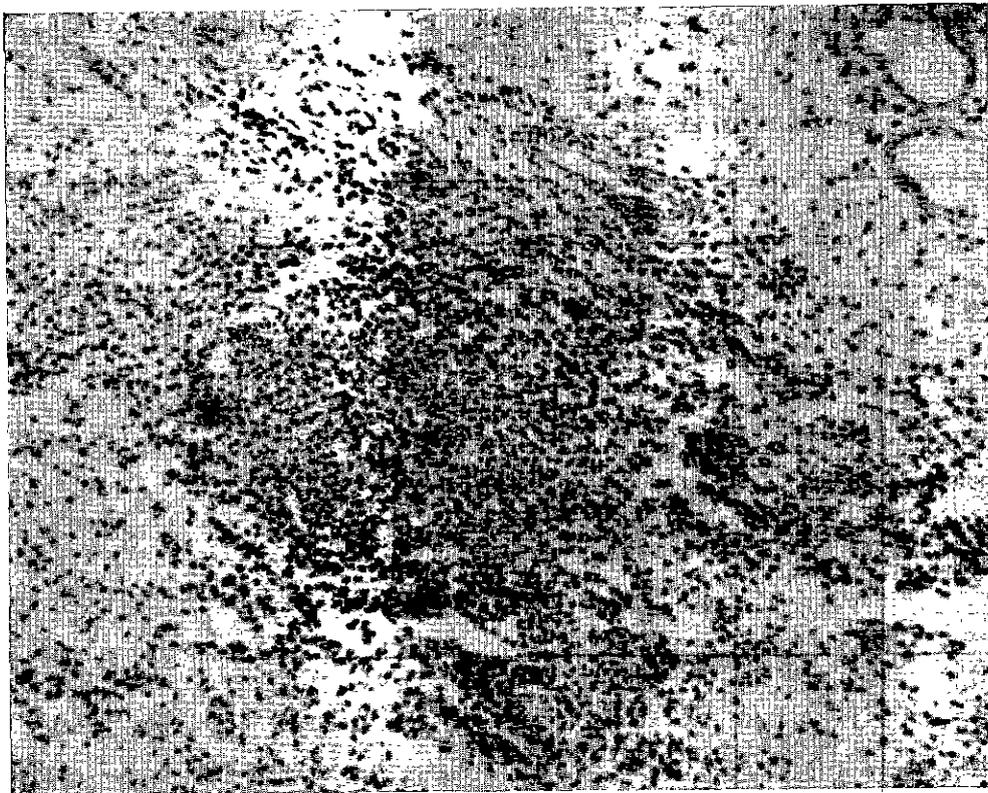


Photo n° 1. — Animal n° 1949 : Site de l'injection intradermique de l'antigène protéique n° 5, dilué au 1/2.
Biopsie effectuée au cours de la 9^e heure après l'injection : l'infiltration du derme par les leucocytes polynucléaires est intense.
Hémateine-Eosine, Zeiss 8 × 10.

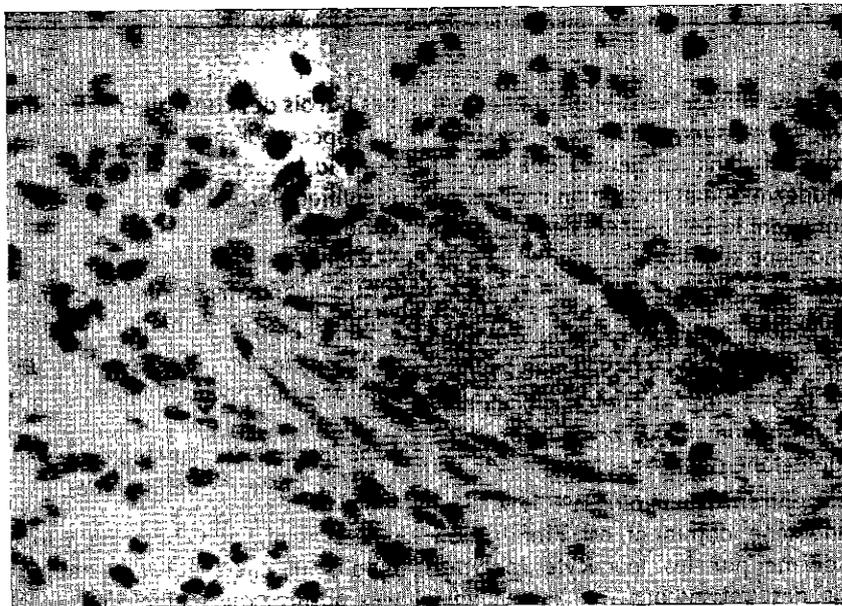


Photo n° 2. — Animal n° 1949 : même coupe que précédemment. L'accolement des polynucléaires à l'endothélium vasculaire est particulièrement net ; la diapédèse est très active. Zeiss 8 × 40.



Photo n° 3. — Animal n° 1965 : site de l'injection intradermique de l'antigène n° 5 pur, prélevé au cours de la 9^e heure.
Début des altérations vasculaires : fibrine coagulée dans la lumière des vaisseaux. Hématéine-Eosine, Zeiss 8 × 16.



Photo n° 4. — Animal n° 1965 : même coupe.
L'afflux leucocytaire est très net ; les polynucléaires s'accumulent dans les zones adventicielles. Zeiss 8 × 16.

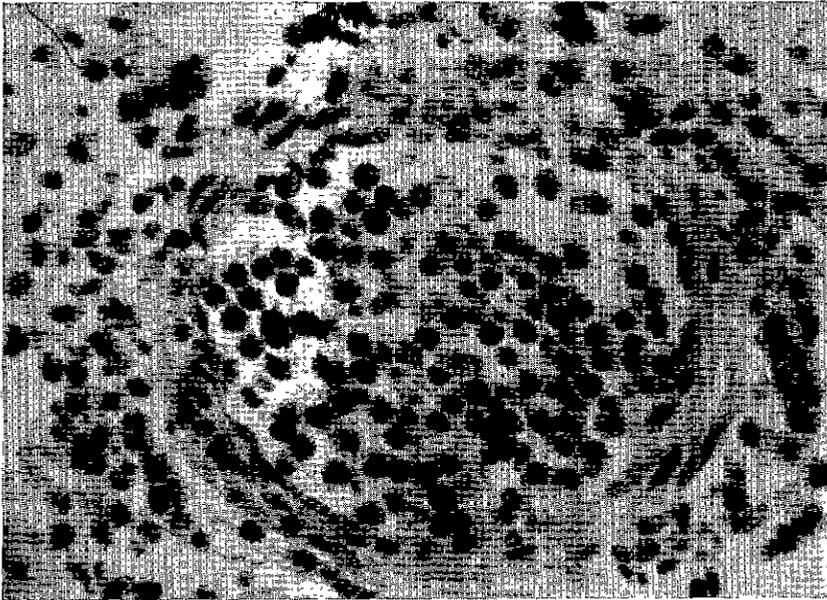


Photo n° 5. — Même coupe, à plus fort grossissement.
Dans la lumière de cette veinule, n'existent que des polynucléaires. Zeiss 8 × 40.

Deux bouillons à sérologie négative servirent de témoins.

Les animaux reçurent au pli sous-caudal droit 0,1 ml de l'antigène n° 5 pur et au pli sous-caudal gauche le même antigène dilué au 1/2 ; les mesures et les observations furent effectuées dans des conditions identiques à celle de l'expérience n° 3.

Les réactions cutanées furent de même nature : épaissement cutané très modéré, apparition rapide de papules œdémateuses évoluant rapidement, à centre hémorragique net, visible souvent dès la 2^e heure et qui constitue dans la majorité des cas le seul signe persistant à la 24^e heure.

L'image histologique d'une réaction de 8 heures (animal n° 1965) se montra identique à celles de l'expérience précédente.

Les 2 témoins n'ont eu que des réactions insignifiantes, sans le moindre point hémorragique ou même congestif.

Expérience n° 5 : Animaux sensibilisés artificiellement.

Les animaux utilisés dans cette dernière expérience étaient répartis en 3 groupes :

— Nos 643, 990, 1923 : sensibilisés par inoculation intra-trachéale de 40 ml d'une culture de 36 heures de la souche Sankhaye ensemencée en bouillon tryptose-sérum de cheval.

Cette infection a été effectuée un mois avant l'inoculation intradermique.

— Nos 1915, 988, 1920 et 940 : ces bovins avaient été immunisés par une suspension dense de *M. mycoides* tué en adjuvant de type Freund et avaient reçu, un mois après, 1 ml d'une culture de 36 heures de la souche Sankhaye (un traitement au Novarsenobenzol avait arrêté l'extension des œdèmes locaux) ; cette dernière inoculation avait eu lieu deux mois auparavant.

— Nos 200 et 184 : ils furent les témoins.

Protocole :

L'antigène du lot n° 5 utilisé dans les trois essais précédents avait donné sur les bovins des réactions nettes, mais de faible ampleur ; aussi avons-nous pensé que sa concentration en éléments actifs pouvait être insuffisante.

Un nouvel antigène n° 6 (F 6) fut alors préparé, avec la même souche B 17 et un pH de 9,4 maintenu au cours des différents temps de l'extraction ; le dialysat final était nettement

plus opaque que celui du lot n° 5 et l'antigène apparaissait donc plus concentré, effet que l'on peut très vraisemblablement attribuer à l'alcalinité du pH. Celui-ci fut réajusté à la neutralité avant l'emploi.

L'hémagglutination passive et l'immunodiffusion en gélose montrèrent alors que cette concentration des antigènes solubilisés valait autant, sinon davantage, pour le galactane (10 fois au minimum le taux de l'antigène n° 5) que pour les éléments protéiques.

Il fut inoculé aux animaux par voie intradermique (0,1 ml non dilué) au pli sous-caudal droit.

Les mesures de l'épaisseur du pli ont été effectuées 5, 24, 29, 48 heures après l'inoculation intradermique.

Commentaires :

1) Le 2^e groupe d'animaux présente des réactions plus importantes que le 1^{er} groupe ; pour ce dernier, elles sont en effet à la limite du seuil positif.

L'explication réside sans aucun doute dans le fait que le 2^e groupe avait été sensibilisé en deux temps, d'abord une injection d'antigène tué en adjuvant de Freund, ensuite une infection par la voie bronchique (constituant l'occurrence un rappel).

2) Les épaissements cutanés dans cet essai sont en valeur absolue de l'ordre de ceux que

rapporte R. N. GOURLAY au Kenya ; sur les 7 animaux positifs, les maximums sont atteints à la 24^e heure pour 6 d'entre eux, à la 29^e heure pour le n° 1923 et à la 48^e heure pour le n° 988.

3) Les animaux n°s 988 et 490 ont présenté des réactions locales très nettes avec un point de nécrose centrale, coïncidant avec les valeurs maximales d'épaississement cutané pour cette expérience.

4) Au moment du test d'allergie, la déviation du complément est pratiquement négative pour tous les animaux et, ici encore, aucune corrélation n'apparaît entre le titre des anticorps déviant le complément et l'intensité de la réaction d'hypersensibilité.

Mais tous ces animaux ont des précipitines à l'exception des deux témoins (n°s 184 et 200) ; elles n'existent qu'en quantité très faible pour le n° 988 et c'est vraiment le seul animal rencontré dans toute cette série d'essais qui, en montrant une réaction cutanée très nette en même temps qu'un titre sérique d'anticorps précipitants presque négatif, peut nous faire évoquer l'existence d'une hypersensibilité de type retardé.

5) Nous sommes obligés de constater que ces résultats ont été obtenus avec celui de nos antigènes (n° 6) qui était le plus riche en lipopolyside, tandis que l'antigène n° 5, très purifié, n'a jamais fourni des réactions d'une telle ampleur.

TABLEAU N° V

Expérience n° 5: animaux sensibilisés artificiellement

N° des animaux :	Délai entre l'infection et le test allergique	Sérologie DC ^a	Épaississement cutané en mm, après les délais suivants (en heures):			
			5	24	29	48
groupe I 643 990 1923	1 mois	-	2,0	4,5	4,4	4,0
		-	3,0	4,4	4,0	3,0
		-	2,7	3,9	4,7	4,2
groupe II 1915 988 1920 490	2 mois	-	1,2	4,5	5,0	5,0
		-	1,8	5,8	5,8	6,8
		1/20 ++	4,5	5,5	4,5	4,5
		-	5,0	8,5	8,5	8,5
témoins 200 184		-	1,5	1,5	2,0	2,0
		-	1,3	2,4	4,8	3,0

DISCUSSION

L'antigène protéique de *M. mycoïdes* provoque effectivement chez les animaux sensibilisés par l'infection péripneumonique une réaction d'hypersensibilité et cette dernière est de type rapide, sinon immédiat.

Dans cette série d'expériences, nous n'avons pas pu établir de façon directe et constante une corrélation entre les anticorps circulants et les réactions que nous avons observées, bien que nous sachions que le transfert passif d'une allergie de type Arthus est aisé à réaliser (10).

Cependant, les réactions les plus nettes ont été enregistrées soit chez des animaux malades naturels, à sérologie très positive, soit chez des animaux sensibilisés artificiellement à deux reprises (essai n° 5). Par contre, les bovins infectés par la voie bronchique, de façon le plus souvent infructueuse d'ailleurs, et qui n'avaient que des titres sérologiques peu élevés ou négatifs, n'ont pas réagi de façon positive.

Le délai d'apparition de la réaction cutanée, les caractères de son évolution et son image histologique font qu'il est impossible de ne pas conclure à une allergie de type Arthus.

La nature et la concentration de l'antigène sont importantes à considérer : alors qu'un antigène très pur (F5) fournit des réactions nettes quant à leur évolution et leur structure histologique, mais fugaces et de faible ampleur, un antigène plus concentré, à forte teneur en lipopolyoside, fournit des réactions plus importantes quant à l'épaississement cutané et durant davantage dans le temps après une apparition tout aussi précoce.

Il est difficile de ne pas évoquer ici, tout comme chez les petits animaux de laboratoire, l'action double du lipopolyoside : son rôle de précipitogène actif et son action irritante pour les tissus.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence une hypersensibilité de type retardé ; il est possible que celle-ci soit recouverte par le phénomène d'Arthus, surtout lorsqu'on provoque ce dernier avec un antigène concentré qui « étale » l'épaississement cutané dans le temps. Toutefois, il est important de considérer que, dans toutes ces expériences, nous avons utilisé des antigènes issus de suspensions extrêmement denses de mycoplasmes et qui ont une teneur en azote

protéique dépassant largement celle des tuberculines purifiées (l'unité biologique-cobaye de celles-ci est de 0,02 µg).

Aussi vient-il à l'esprit que, s'il faut vraiment un antigène concentré pour obtenir une réaction de lecture facile chez les bovins, c'est qu'il ne s'agit sans doute pas seulement d'un phénomène d'allergie retardée de type tuberculinique, habituellement sensible.

L'intérêt du test d'allergie pour le diagnostic de la péripneumonie se trouve considérablement amoindri, si ce test ne révèle essentiellement que l'allergie de type Arthus, car son degré d'intensité ne dépend que du taux des anticorps circulants (précipitants et autres), taux que mesurent avec beaucoup plus de précision les méthodes sérologiques habituelles.

Le dépistage de l'hypersensibilité de type retardé, qui reste à identifier de façon formelle, n'aura toute sa valeur que si l'injection intradermique est faite à des animaux sérologiquement négatifs puisqu'à chaque fois qu'un seuil d'anticorps circulants sera atteint, il entraînera l'évolution d'une réaction cutanée rapide masquant la seconde de caractère retardé.

Il sera par ailleurs indispensable de disposer d'une fraction protéique pure de *M. mycoïdes*, débarrassée au maximum du lipopolyoside, d'autant plus que la spécificité sérologique de celui-ci paraît bien remise en cause (12, 13).

Pour conclure, il faut bien avouer que le test d'allergie, si tant est qu'il puisse un jour rendre service en matière de diagnostic, reste une méthode dont l'application pratique n'est pas encore proche ; et nous n'évoquons pas encore ici les difficultés de son exécution dans les zones sahéliennes d'élevage extensif où il faudra littéralement capturer deux fois les animaux, pour une injection intradermique bien difficile sur des animaux indociles et pour une mesure au pied à coulisse tout aussi malaisée.

CONCLUSIONS

Le test d'allergie effectué sur des bovins du Sénégal, sensibilisés par infection artificielle ou maladie naturelle, ne révèle surtout qu'une hypersensibilité de type rapide (phénomène d'Arthus) identifiée par les critères suivants : apparition précoce et évolution rapide de la

réaction cutanée, image histologique d'infiltration par les polynucléaires, possibilité du transfert passif de cette allergie.

Les fortes réactions cutanées, correspondant aux épaissements maximaux du derme, ne s'observent qu'avec un antigène concentré à forte teneur en lipopolyoside et elles durent plus longtemps que celles qu'entraîne un antigène protéique relativement pur, incapable de provoquer des réactions aussi importantes.

L'existence d'une réaction d'hypersensibilité retardée n'est pas exclue, mais en tout état de cause elle n'a pu être identifiée formellement ; l'association des deux types d'allergie chez les animaux sérologiquement positifs ne serait d'ailleurs que chose banale.

Il ne nous semble pas que ce test puisse, dans un proche avenir, être mis dans les mains des équipes de prophylaxie.

SUMMARY

The allergy test and the diagnosis of bovine pleuropneumonia.

II. Experiments on cattle from the Senegal, naturally and artificially infected with bovine pleuropneumonia

During five experiments carried out on cattle of Senegal, sensitized through natural or artificial infections, the authors try and determine whether the same characters of hypersensitivity can be found again in these cattle (zebu and zebu X taurine crossbreds) as those observed on laboratory animals and which are typical of the Arthus allergy.

This phenomenon actually appears in the cattle and the existence of a delayed hypersensitivity cannot be formally stated.

Strong cutaneous reactions seem to appear only when concentrated antigens are used with a high content of lipopolyoside.

The possibilities of using an allergy test for the diagnosis of bovine pleuropneumonia are discussed.

RESUMEN

La Prueba de alergia y el diagnóstico de la perineumonía bovina.

II. Ensayos en los bovinos del Senegal, naturalmente y artificialmente infectados

Se efectuaron cinco experimentaciones con bovinos del Senegal, sensibilizados artificialmente o por la enfermedad natural, utilizando los antígenos descritos en otro artículo.

Los autores intentan determinar si se encuentran en estos bovinos (cebus y mestizo cebú-taurino) los mismos caracteres de la reacción de hipersensibilidad que los observados en los animales de laboratorio ; estos caracteres son el propio de la alergia del tipo Arthus.

Efectivamente se encuentra esta alergia en los bovinos y formalmente no se puede probar la existencia de una hipersensibilidad de tipo retardada.

Las reacciones cutáneas importantes solo aparecerían con la utilización de antígenos concentrados, en dosis elevada de lipopoliosido.

Se discuten las posibilidades de la utilización de una prueba de alergia para el diagnóstico de la perineumonía contagiosa bovina.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAER (H.) et CHAPARAS (S. D.). — **Tuberculin reactivity of a carbohydrate component of unheated BCG culture filtrate.** *Science*, 1964, **146** : 245-47.
2. BAHRAH (E. E.), EGOROVA (V. D.) et PAVLOVA (L. P.). — **Characteristics of the polysaccharide-containing « *Past. pestis* » fraction.** *J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobil.* (en russe, résumé en anglais), 1962, **6** : 126-30.
3. CHAPARAS (S. D.) et BAER (H.). — **The immunology and chemistry of tuberculin. II. Chromatography with sephadex of the nondialyzable tuberculinactive constituents of BCG culture filtrate.** *Amer. Rev. respir. Dis.*, 1964, **89** : 41-48.
4. GOURLAY (R. N.). — **An intradermal reaction produced by an extract of *Mycoplasma mycoides*.** *Vet. Rec.*, 1962, **74** : 1321-22.
5. GOURLAY (R. N.). — **The allergic reaction in Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1964, **74** : 286-99.
6. GOURLAY (R. N.), PALMER (R. F.). — **Further studies on the allergic reaction in Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. comp. Path.*, 1965, **75** : 89-95.
7. GOURLAY (R. N.). — **Comparison between some diagnostic tests for Contagious Bovine Pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 97-109.
8. GOURLAY (R. N.) et SHIFRINE (M.). — **Comparison between methods of antigen preparation and the use of adjuvant in the delayed allergic skin reaction in contagious bovine pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 375-80.
9. PERREAU (P.), PROVOST (A.), REGNOULT (R.) et ORUE (J.). — **Valeur de la réaction d'hémagglutination indirecte dans la péri-pneumonie bovine.** *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964, **17** (1) : 1-14.
10. PROVOST (A.), VILLEMOT (J. M.) in memoriam et BORREDON (C.). — **Quelques faits nouveaux dans la pathogénie de la péri-pneumonie bovine.** Document de travail de la 2^e réunion du groupe d'experts FAO/OIE/CCTA sur la péri-pneumonie bovine. Muguga, Kenya, 1964.
11. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **The immediate type allergic skin reaction in contagious bovine pleuropneumonia.** *J. Comp. Path.*, 1965, **75** : 381-85.
12. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **Serological relationship between galactans from normal bovine lung and from *Mycoplasma mycoides*.** *Nature*, 1965, **208** (5009), 498-99.
13. SHIFRINE (M.) et GOURLAY (R. N.). — **Serological relationships between *Mycoplasma mycoides* and other bacteria.** Second conference on Biology of the Mycoplasmas New York, May 10-13, New York.