

Constantes biologiques au Congo des moutons inoculés pour préparation du vaccin antirabique

P. ACKER, C. JOLIBOIS, J. DEMARCHI

Institut Pasteur de Brazzaville

RÉSUMÉ

Il a été tenté d'établir les valeurs moyennes de certains constituants sanguins du matériel animal utilisé pour la préparation du vaccin antirabique. Ces valeurs sont suivies chez les animaux inoculés, et les résultats obtenus sont comparés à ceux d'autres auteurs.

MATÉRIEL D'EXPÉRIMENTATION ET PROTOCOLE DES EXPÉRIENCES

Nous avons utilisé 71 moutons de race locale (40 en expérience réelle, 31 en groupes de contrôle) d'un poids de 25 à 30 kg et dont les cerveaux pesaient en moyenne 78 g (de 74 à 82).

Les examens ont été pratiqués au jour « J » (jour de l'inoculation) et aux jours J + 2, J + 5, et J + 7 (jour de paralysie et de sacrifice). Nous avons abandonné le jour J + 2 après le mouton n° 9, les résultats des examens étant trop proches du jour « J ».

L'expérience a été menée sur une année complète pour éliminer les variations climatiques ou au contraire pouvoir les déceler.

La souche utilisée fut la souche de rage fixe Louis Pasteur qui a montré pour les animaux en expérience une remarquable fixité d'incubation de sept jours.

Avant les inoculations, les moutons étaient gardés en observation à la ferme expérimentale de Gamaba, en pâture normale, pendant environ 2 mois.

Les inoculations furent intracérébrales à raison de 0,5 ml d'une suspension de cerveau de lapin au 1/10 P/V, après incision au bistouri et trépanation au foret.

Les saignées furent faites à la veine jugulaire.

La nourriture des moutons en expérience se composait de fourrage frais et de maïs concassé avec ration hydrique deux fois par jour.

MÉTHODES UTILISÉES

Méthodes classiques d'hématologie et de chimie biologique.

L'électrophorèse des protéines présente six sommets :

— Une fraction rapide d'albumine très nettement individualisée.

— Une fraction intermédiaire séparée en 2 bandes : la première toujours assez peu individualisée (alpha 1 globulines), la seconde très nette (alpha 2 globulines).

— Une fraction plus lente avec une première partie en général nette (bêta globulines) suivie d'un tracé très net des gamma globulines. Celles-ci sont suivies d'une traînée très rapprochée, souvent collée, rarement bien individualisée, que nous avons nommée gamma prime rejoignant en cela les observations de PLAGNOL et MARX (1).

TABLEAU I

Déterminations	Jour J	Jour J + 5	Jour J + 7
Globules rouges (en millions)	5,8 (4,5 - 8,5)	5,8 (5 - 8,4)	5,8 (4 - 8)
Globules blancs (en milliers)	8 (2,7 - 14)	7,9 (2,8 - 12)	8,1 (3,4 - 13)
Formule leucocytaire en p. 100 :			
Polynucléaires neutrophiles	49 (45 - 67)	51 (44 - 64)	50 (45 - 63)
Polynucléaires éosinophiles	2 (0 - 10)	2 (0 - 9)	1,9 (0 - 8)
Mononucléaires lymphocytes	47 (43 - 60)	45 (38 - 62)	46 (37 - 64)
Mononucléaires monocytes	2 (0 - 5)	2,3 (0 - 4)	1,9 (0 - 6)
Temps de coagulation (en minutes)	9,3 (5,6 - 15,1)	10,2 (5,3 - 14,3)	9,4 (6,2 - 13,5)
Hématocrite	28,5 (20 - 34)	29 (20 - 42)	29 (20 - 46)

TABLEAU II

Déterminations	Jour J	Jour J + 5	Jour J + 7	Observations
Azotémie en g/l	0,38 (0,15 - 0,70)	0,48 (0,17 - 0,80)	0,86 (0,46 - 1,75)	99 p. 100 des animaux présentent une augmentation.
Glycémie en g/l	0,64 (0,46 - 0,85)	0,76 (0,40 - 1,54)	1,20 (0,56 - 2)	100 p. 100 des animaux présentent une augmentation.
Cholestérol en g/l	0,53 (0,33 - 0,96)	0,63 (0,33 - 1,04)	0,83 (0,43 - 1,10)	Chiffres augmentés pour 75 p. 100 des animaux.
Protéines totales en g/l	65,4 (59 - 73)	70,7 (56 - 85)	78,2 (65 - 100)	Chiffres augmentés pour 90 p. 100 des animaux.
Rapport A/G	0,67 (0,43 - 1,10)	0,69 (0,44 - 1,2)	0,64 (0,31 - 0,92)	Chiffres augmentés pour 45 p. 100 des animaux. Chiffres diminués pour 45 p. 100 des animaux. Sans changement pour 10 p. 100.
Bêta lipoprotéines (R. Burstein en degrés Vernes)	31° (24 - 52)	-	38° (31 - 59)	Augmentation inconsistante.
Lipides des bêta lipoprotéines en g/l	2,94 (2,28 - 4,94)	-	3,61 (2,94 - 5,60)	

RÉSULTATS OBTENUS

Les chiffres indiqués représentent des moyennes. Ceux entre parenthèses les chiffres extrêmes.

1) Examens hématologiques (Tab. 1).

2) Examens chimiques (Tab. 2).

3) Constantes électrophorétiques (Tab. 3 et 4).

Les variations du taux des protéines totales étant importantes, il semble plus rigoureux de comparer les quantités respectives des divers constituants protéiniques en poids.

TABLEAU III. — Répartition (en p. 100) des constituants protéiniques

Déterminations	Jour J	Jour J + 5	Jour J + 7
Albumine	39,7	40	38,8
Alpha 1 globulines	6,1	6,1	6
Alpha 2 globulines	10,2	10,1	10,4
Bêta globulines	11,2	13	11,5
Gamma globulines	23,4	21,7	22,9
Gamma ' globulines	9,4	9,1	10,4

TABLEAU IV. — Répartition (en poids) des constituants protéiniques

Protéines	Jour J	Jour J + 7	Remarques
Albumine	25,9	30,1	+ 4,2
Alpha 1 globulines	4,1	4,7	+ 0,6
Alpha 2 globulines	6,8	8,1	+ 1,3
Bêta globulines	7,2	9,1	+ 1,9
Gamma globulines	15,3	17,8	+ 2,5
Gamma ' globulines	6,1	8,2	+ 2,1
Protéines totales	65,4	78,2	+12,6

Il apparaît donc qu'en moyenne il y a une augmentation pondérale de chaque fraction mais l'augmentation des globulines est double de celle de l'albumine, ce qui permet au rapport A/G de rester stationnaire.

4) Fiche réticulo-endothéliale.

Exprimée en degrés Vernes, elle nous a donné les moyennes suivantes pour le jour « J » (inoculation) :

pH	:	7,8	7,4	6,9	6,6	6,3	5,9	5,5	4,8
D V	:	4	6	11	19	25	38	44	32
		(0 à 9)	(3 à 12)	(5 à 16)	(12 à 27)	(15 à 35)	(30 à 52)	(31 à 63)	(25 à 40)

Les chiffres entre parenthèses indiquent que les variations individuelles normales sont larges.

Le tracé de la F. R. E. au 7^e jour (avant sacrifice) n'apporte aucun renseignement interprétable.

5) Hématocrite : Variations des constantes par rapport à l'hématocrite.

Les variations de l'hématocrite au cours de l'expérimentation étaient importantes à suivre afin de déceler une hémococoncentration ou une

hémodilution responsables des variations des constituants dosés. Les chiffres obtenus ont montré une constante de l'hématocrite durant l'expérimentation.

VARIATIONS BIOLOGIQUES DANS DES GROUPES DE MOUTONS TÉMOINS

Pour pouvoir rapporter à l'injection antirabique les résultats obtenus trois lots témoins et un lot de confirmation ont été formés (31 moutons).

— 1^{er} lot : témoins vrais :

Lot constitué par des moutons n'ayant subi aucune injection et ayant vécu les sept jours d'incubation au milieu des moutons inoculés, strictement dans les mêmes conditions d'environnement et de soins.

— 2^e lot : témoins cerveau de lapin :

Lot de moutons ayant reçu uniquement une injection intracérébrale du support inoculum pour recherche de l'effet propre éventuel.

— 3^e lot : témoins-sérum physiologique :

L'injection intracérébrale du virus antirabique et de son support a été remplacée par 0,5 ml de sérum physiologique (recherche d'un effet traumatisant).

— 4^e lot : lot de confirmation Virus-Fréon :

Ce lot a été inoculé avec une solution obtenue par délipidation au moyen de fréon du cerveau de lapin rabique sur le principe suivant :

— action du fréon 113 à parties égales sur la suspension de cerveau de lapin au 1/10 — agitation magnétique de 30 minutes et centrifugation 10 minutes à 2.000 t/m avec inoculation du surnageant.

Nous pensons ainsi pouvoir nous priver des lipides cérébraux et injecter une suspension non lipidique de virus. En fait, cette technique ne nous a pas apporté les résultats escomptés car la délipidation fut insuffisante, en général autour de 50 p. 100. Nous donnons cependant à titre indicatif les résultats obtenus, groupés avec ceux des témoins au tableau 5.

Quelques moutons ont aussi été injectés avec le culot lipidique de centrifugation après action du fréon : si certains à J. + 60 n'avaient pré-

senté aucun symptôme paralytique, par contre d'autres moururent paralysés à J. + 10 ou J. + 12. La séparation au fréon fut donc loin d'être parfaite.

L'examen de ce tableau montre que les résultats des lots témoins nos 1 et 3 restent dans les limites normales, que la glycémie et la cholestérolémie du lot témoin n° 2 accusent une certaine élévation mais que la suspension virale redonne les mêmes variations que celles obtenues précédemment avec l'inoculum rabique.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

1) Constantes biologiques normales des moutons du Congo.

Elles sont représentées par les divers résultats obtenus au jour « J » (avant inoculation).

En plus des larges variations individuelles classiques (2-3) les résultats obtenus sont extrêmement liés à l'alimentation et comme nous avons pu le constater par ailleurs à l'occasion d'autres expérimentations, des lots de moutons nourris avec des provendes commerciales concentrées sont susceptibles de fournir des chiffres très différents : azotémie 0,45-0,50 g/l ; glycémie 0,70 à 0,80 g/l ; cholestérol 1,20 à 1,50 g/l ; R. Burstein 45 à 60° V ; protéines totales 70 à 76 g/l, avec cependant un rapport A/G habituel.

2) Action sur les constantes biologiques de l'inoculation intracérébrale de virus rabique au mouton.

De nombreux auteurs se sont intéressés à ce problème et ont publié des résultats concernant des élevages fort différents (Amérique-Madagascar-Afrique du Nord-Afrique Occidentale, etc..).

Leurs conclusions peuvent être schématiquement groupées ainsi : lors de l'évolution de la maladie chez le mouton, après inoculation intracérébrale, les constatations suivantes peuvent être faites :

— une augmentation de la glycémie (4-5-6-7-11).

— l'apparition d'une glycosurie (9-4-10).

— une augmentation de l'urée sanguine (5-7-11).

— une augmentation importante du nombre de plaquettes sanguines (11).

TABLEAU V. — Résultats des examens

	1er lot	2ème lot	3ème lot	4ème lot
	Témoins vrais (8 moutons)	Témoins cerveau de lapin (8 moutons)	Témoins sérum physiologique (5 moutons)	Suspension virale après fréon (10 moutons)
Moyenne des résultats à J + 7				
<u>Examens hématologiques</u>				
Numération rouge (en millions)	5,8	5,8	5,8	5,8
Numération blanche	7,900	8,100	7,800	7,900
Polynucléaires neutrophiles	50	47,1	50,5	49
Polynucléaires éosinophiles	2,1	2,4	1,5	2,4
Mononucléaires lymphocytes	46,1	48	46,4	47
Mononucléaires monocytes	2,2	2,7	2	2
Temps de coagulation (en mn)	9,5	9,2	9,6	9,4
Hématocrite	27,9	29,1	29,5	29
<u>Examens biochimiques</u>				
Azorémie en g/l	0,53	0,51	0,50	1,20
Glycémie en g/l	0,58	0,90	0,46	1,15
Cholestérolémie en g/l	0,62	0,73	0,65	0,71
R. Burstein en degrés Vernes	33	34	38	40
Protidémie en g/l	65	66,1	64	77,7
Rapport A/G	0,66	0,58	0,63	0,68
Albumine en p. 100	39,5	37,6	38	40,4
Alpha 1 globulines en p. 100	8	7,7	7,5	7,2
Alpha 2 globulines en p. 100	11,5	11,7	11	12
Bêta globulines en p. 100	12	10,7	11	11,2
Gamma globulines en p. 100	19,5	20,7	22	20
Gamma prime globulines en p. 100	9,5	11,6	10,5	9,4
F.R.E.	Variable	Variable	Variable	Variable
Observations	Vivants à J + 7	Vivants à J + 7	Vivants à J + 7	Morts paralysés entre J + 7 et J + 9

— une diminution de la numération rouge (11).
 — une diminution de la phosphatémie (6).
 — l'état stationnaire de la chlorémie (6-11), de la sidérémie, de l'uricémie, de la créatinémie (6), de la numération blanche (11-12) et du fibrinogène (11).

L'accord n'est plus total en ce qui concerne les éléments suivants :

— l'albumine : elle apparaît ou non suivant les auteurs.

— le cholestérol ; il baisse pour certains (6-7) et augmente pour d'autres (11).

— les protides totaux : ils baissent pour COMBEUIL et PAGES (7) comme l'observent aussi PLAGNOL et MARX chez le lapin (1) mais pour KCHOUK, SCHNEIDER et DURAND, ils augmentent (11).

— l'électrophorégramme resterait pour certains pratiquement inchangé (8-11-1). Il en serait de même chez le lapin, le cobaye, la souris

blanche, le rat blanc (8) et aussi lors de la vaccination antirabique humaine (1). Par contre, pour d'autres, la rage amènerait une augmentation importante des alpha 2 globulines chez l'homme (8-1) et le chien (8), une méthode de diagnostic basée sur ce principe ayant même été préconisée.

Toutes ces diverses modifications n'ont pas à notre connaissance reçu d'explications (manifestations agoniques, lésions bulbaires, etc...).

De notre expérience personnelle, nous retiendrons qu'au point de vue hématologique, aucune variation n'a pu être notée et que les seules enregistrées furent individuelles et indépendantes des facteurs climatiques.

On peut donc pratiquement considérer que le virus fixe n'a pas eu d'action sur la crase sanguine et les constantes hématologiques classiques.

Par contre, au point de vue biochimique, nous avons assisté en une semaine à une élévation très nette de l'azotémie, de la glycémie et de la protidémie totale.

Ces augmentations furent accompagnées d'une inflation moins nette et plus irrégulière des Bêta lipoprotéines et de la cholestérolémie.

Quant aux constituants des diverses fractions protidiques, ni le rapport albumine/globuline ni les diverses fractions électrophorétiques ne

montrèrent pratiquement de variations en pourcentage, mais par contre, si l'on calcule les diverses fractions en poids, en tenant compte de l'élévation protidique totale, on s'aperçoit que chaque fraction augmente notablement :

L'albumine de 4,2 g ; le groupe alpha de 1,9 g ; le groupe bêta de 1,9 g ; le groupe gamma de 4,6 g. L'augmentation moyenne du groupe gamma n'est cependant pas significative.

Nous avons vu d'autre part que les F. R. E. des moutons inoculés étaient irrégulières et sans variations exploitables.

CONCLUSIONS

L'étude de certains constituants sanguins du matériel animal utilisé pour la préparation du vaccin antirabique a permis d'en dresser les valeurs moyennes pour les moutons du Congo.

L'étude de ces constantes chez les animaux inoculés par rapport à celles de groupes-témoins ou de confirmation a permis d'enregistrer certaines variations nettes au point de vue biochimique, qu'il semble logique à notre stade de travail de rapporter à l'action du virus injecté.

Mars 1964, Institut Pasteur de Brazzaville.

SUMMARY

Biological characteristics in Congo of sheeps inoculated for the production of Rabies vaccine

A trial has been made in order to establish the average value of some blood characteristics of the animals used for the production of Rabies vaccine. These values have been recorded in inoculated animals, and the results obtained have been compared with those reported by some other authors.

RESUMEN

Constantes biológicas de las ovejas inoculadas para la preparación de la vacuna antirabica en el Congo

Se ensayó determinar los valores medios de ciertos constituyentes sanguíneos de las partes animales utilizadas para la preparación de la vacuna antirabica. Se siguen mediendo estos valores en los animales inoculados, y se comparan los resultados obtenidos con los de otros autores.

BIBLIOGRAPHIE

1. PLAGNOL (H.) et MARX. — **Rapport fonct. technique de l'Institut Pasteur de Dakar**, 1957, 1958, 1959, 193.
2. PANISSET (R.). — **Contrôle par l'électrophorèse des résultats obtenus à l'aide des méthodes de sérologie non spécifique** (Thèse Doctorat vétérinaire, Lyon, 1955).
3. VIGNAND (P.). — **Recherches sur l'électrophorèse des sérums normaux d'animaux domestiques** (Thèse Doctorat vétérinaire, Lyon, 1956).
4. SUHACI cité par CURASSON dans les « maladies infectieuses des animaux domestiques ». Paris Vigot 1946, p. 220.
5. REMLIGER (P.) et BAILLY (J.). — **La rage**. Paris, Maloine, 1947.
6. AGARWAL. — *Sc. Ind. Med. Res.* 1956, 44, 37.
7. COMBEUIL (G.) et PAGES (A.). — *Rapport annuel I. P. Madagascar*, 1956, 49.
8. CHABAUD, SERIE, ANDRAL. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1955, 88, 420-434.
9. CORSALINI (T.). — *Vet. Ital.*, 1954, 5, 27.
10. AZIDUDDIN (M.), CANAPATHY (M. S.). — *Ind. Vet. J.*, 1954, 30, 480.
11. KCHOUK (M.), SCNEIDER (R.), DURAND (M.). — *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*. Juin, 1961, n° 2, t. 38, 145.
12. POUL (J.). — *Archives de l'Institut Pasteur d'Alger*. 1960, 38, 27.