

RECHERCHES SUR LES ANTIGENES DE PASTEURELLA PESTIS

I. — ANTIGENES DE LA SOUCHE E.V. ETUDIÉS PAR PRÉCIPITATION EN GÉLOSE

F. DAOD NATHOO, A. DODIN et E.R. BRYGOO

De très nombreux travaux traitent de la constitution antigénique du bacille de Yersin. Différents auteurs ont appliqué avec succès la technique de précipitation en gélose à l'analyse antigénique du bacille de la peste. Citons, entre autres, les publications de RANSOM et coll. (1-2), CHIX et MEYER (3), BHAGAVAN et coll. (4,5), BURROWS et BACON (6-7), CRUMPTON et DAVIES (8-9).

Nous avons dans une première série d'expériences étudié les constituants antigéniques de *Pasteurella pestis*, souche E.V. par précipitation en gélose (*), en fonction des conditions de culture du germe et de différentes techniques d'extraction.

A. TECHNIQUES ET METHODES

La souche. — Souche E.V. n° 370, cultivée sur peptone P.T.V. gélosée, en boîtes de Roux ou de Jouan, à la température de 26° ou de 37°.

La récolte est effectuée après quarante-huit heures d'incubation.

Les antigènes. — Pour chacune des deux températures de culture nous avons utilisé les préparations antigéniques suivantes :

- suspension de germes en eau distillée, à raison de 1 ml d'eau pour 200 mg de germes en poids humide;
- suspension congelée et décongelée à quatre reprises;
- surnaçant de la suspension congelée et décongelée centrifugée pendant vingt minutes à basse température;
- surnaçant dialysé contre de l'eau courante durant quarante-huit heures, puis contre de l'eau distillée durant vingt-quatre heures à 1/4 ;
- surnaçant chauffé à 56° pendant une heure;
- surnaçant chauffé à 100° pendant une heure.

Pour les cultures obtenues à 26° nous avons, de plus, procédé à des extractions des acides ribonucléiques (ARN) et desoxyribonucléiques (ADN) par la technique mise au point par MIRSKY et POLLISTER (10) pour le pneumocoque type III.

(* Nous tenons à exprimer tous nos remerciements à M. RAYNAUD et E.H. RELYEN, de l'Institut Pasteur, annexe de Garches, qui ont bien voulu nous initier à cette technique et nous en montrer les difficultés. E.R.B.

Les anticorps. Dans cette première série d'expériences nous avons utilisé un sérum antipesteux préparé par l'Institut Pasteur de Paris, en novembre 1956, et portant le n° 30.006. Ce sérum était utilisé pur.

La réaction. Nous utilisons la technique de précipitation en boîte de Petri. Boîte de 70 mm de diamètre contenant 19 ml de gélose dans laquelle sont creusés à l'emporte-pièce cinq trous cylindriques de 8 mm de diamètre. Chaque trou est rempli de 0,2 ml de réactif. Les boîtes sont fermées à la plastiline, conservées à température ordinaire. L'observation commence le cinquième jour et se poursuit pendant trois semaines.

B. LES RESULTATS

Avec le sérum utilisé, le maximum de complexité de la réaction est obtenu lorsque l'on met en présence la suspension en eau distillée des germes E.V., cultivés à 26°. Il est alors possible d'individualiser de façon constante quatre systèmes de précipitation. Les bandes correspondant à ces quatre systèmes sont désignées dans l'ordre par les lettres A, B, C, D, en donnant la lettre A à la bande qui se forme le plus près de l'antigène.

Lorsque l'on utilise les germes cultivés à 37°, seules deux bandes de précipitation sont nettement visibles.

Le traitement des germes cultivés à 26° par congélation-décongélation répétées ne fait pas apparaître de système supplémentaire. Ces quatre bandes se retrouvent dans le surnageant après centrifugation pendant vingt minutes à 12.000 tours-minute à 0°.

Après dialyse, il n'est plus possible de mettre en évidence que trois systèmes précipitants, la bande B ne s'observe plus. On observe également une modification de l'aspect de la précipitation C.

Avec les germes cultivés, à 37° les deux systèmes précipitants se retrouvent après centrifugation. Il ne reste plus qu'une seule zone de précipitation après dialyse.

Action de la chaleur

Traité pendant une heure à 56°, la suspension antigénique obtenue avec une culture à 26° ne donne plus que trois systèmes précipitants. Traité pendant une heure à 100°, il ne reste plus que deux systèmes précipitants.

Avec la suspension antigénique «37°», après passage à 56°, les deux systèmes subsistent. Après passage à 100° il persiste une bande nette et une zone de précipitation à définir.

Essais de purification chimique

Nous avons traité par la technique signalée plus haut une culture de germes E.V. obtenue à 26°.

L'extrait ARN donne encore quatre systèmes de précipitation mais il semble que le système B est au moins partiellement modifié. Ce point devra être précisé.

Avec l'extrait ADN, il ne subsiste plus qu'un seul système réagissant, qui semble partiellement différent des quatre systèmes ARN.

C. CONCLUSION

Ces premiers résultats sont encore très fragmentaires mais ils montrent tout l'intérêt de l'étude des constituants antigéniques d'une souche vaccinale comme la souche E.V. Nous nous proposons de poursuivre ces recherches en utilisant un autre sérum antipesteux dont les essais préliminaires nous permettent d'espérer une analyse antigénique plus fine. Nous procéderons également à des essais d'identification des différents complexes précipitants ainsi qu'à des essais de pouvoir vaccinant des antigènes ainsi séparés.

RESUME

Les auteurs donnent leurs premiers résultats de l'analyse antigénique par précipitation en gélose de *Pasteurella pestis* souche E.V., en présence du sérum antipesteux de l'Institut Pasteur de Paris. Ils comparent les systèmes précipitants observés avec des germes cultivés à 26° et à 37°, ainsi que le comportement des antigènes à divers traitements physiques et chimiques.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) RANSOM J.-P., QUAN S.-F., HOGGAN M.-D. et OMI G. — Antigenic comparisons of strains of *Pasteurella pestis*. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1955, 88, 173-176. in Bul. Inst. Pasteur 1955, 53, 1894.
- (2) RANSOM J.-P., QUAN S.-F., OMI G. et HOGGAN M.-D. — The role of serum proteins in gel-precipitin patterns of *Pasteurella pestis*. J. Immunol. 1955, 75, 265-268. in Bul. Inst. Pasteur 1956, 54, 1281.
- (3) CHEN T.-H. et MEYER K.-F. — Studies on Immunization against Plague. X. Specific Precipitation of *Pasteurella pestis*. Antigens and Antibodies in Gels. J. Immunol. 1955, 74, 501-507. in Bul. Inst. Pasteur 1956, 54, 1279-1280.
- (4) BHAGAVAN N.-V., CHEN T.-H. et MEYER K.-F. — Further Studies of Antigenic Structure of *Pasteurella pestis* in Gels. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1956, 91, 353-356. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 54, 474.
- (5) BHAGAVAN N.-V., NIMBKAR Y.-S. et RAO S.-S. — Fractionation of the soluble antigens of *Pasteurella pestis*. Indian J. Med. Res. 1957, 45, 1-8. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 55, 3676.
- (6) BURROWS T.-W. — An antigen determining virulence in *Pasteurella pestis*. Nature 1956, 177, 126-127. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 55, 476.
- (7) BURROWS T.-W. et BACON G.-A. — The basis of virulence in *Pasteurella pestis* : an antigen determining virulence. Brit. J. exp. Path. 1956, 37, 481-493. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 55, 477.
- (8) CRUMPTON M.-J. et DAVIES D.-A.-L. — An Antigenic Analysis of *Pasteurella pestis* by Diffusion of Antigens and Antibodies in Agar. Proc. Roy. Soc. 1956, B, 145, 109-134. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 54, 471-475.
- (9) DAVIES D.-A.-L. — A specific Polysaccharide of *Pasteurella pestis*. Biochem. J. 1956, 63, 105-116. in Bul. Inst. Pasteur 1957, 54, 475.
- (10) MIRSKY A.E. et POLLISTER A. — Chromosomin, a desoxyribonucleic complex of the cell nucleus. J. Gen. Physiol. 1951, 30, 117-118.