

## LES ANTICORPS HOMOCYTOTROPIQUES CHEZ LE PORC

J.J. METZGER, P. ROUZE, Ch. BOURDIEU et M. HOUDAYER

I.N.R.A. – Station de Recherches de Virologie et d'Immunologie  
78850 – Thiverval – Grignon

Les réactions d'hypersensibilité immédiate sont relativement mal connues chez le porc. En effet, ce n'est que récemment que le porc a été utilisé comme animal d'expérimentation, particulièrement en chirurgie et dans le domaine des transplantations. De ce fait, il a été longtemps ignoré des physiologistes. Sur le plan de l'immunologie porcine, il n'existe pas encore d'analyse complète des propriétés biologiques des diverses classes et sous-classes d'immunoglobulines porcines. BARRATT, en 1972, a transféré passivement à des porcs non infestés, une hypersensibilité cutanée à partir de sérum de porcs infestés par *Métastrongylus* spp. Il a tenté une première caractérisation des anticorps responsables qu'il n'a pas pu distinguer des IgA (1).

WELLS et al. en 1973, ont étudié, chez le porc immunisé contre l'ovalbumine, les conséquences, sur les réactions vasculaires pulmonaires, d'un choc anaphylactique intense provoqué par une injection intraveineuse du même antigène (9).

THOMLINSON et coll. ont étudié les réactions d'hypersensibilité chez les porcelets à la mamelle (2,7,8).

### RAPPELS ET OBSERVATIONS CLINIQUES

Les réactions d'hypersensibilité sont liées à deux types distincts de réactivité immunitaire. L'hypersensibilité retardée dont l'exemple est l'épreuve de la tuberculation, est un phénomène relevant de l'immunité cellulaire. Elle se traduit, deux jours après l'injection locale d'antigène à un animal sensible, par une infiltration de cellules mononuclées et par un œdème. Cette réactivité ne peut se transmettre passivement à un animal neuf que par le transfert de lymphocytes sensibilisés. Les hypersensibilités immédiates, au contraire, sont à médiation humorale, liées à la présence d'anticorps que l'on peut transmettre passivement par l'injection de sérum. Selon la nature des anticorps en cause, on a pu distinguer plusieurs formes. Les phénomènes du type Arthus, locaux ou généraux, se traduisent par des hémorragies locales ou un état de choc qui apparaissent dans les minutes qui suivent l'injection d'antigène et qui sont dus à la formation dans les vaisseaux de microprecipités antigène-anticorps. Cette réaction est à différencier de la réaction de Schwartzmann, phénomène hémorragique local à la suite d'une seule inoculation d'endotoxine bactérienne. Enfin, le phénomène d'anaphylaxie vraie est dû à une propriété particulière des anticorps en cause de se lier et de se maintenir à la surface de certaines cellules (mastocytes et polynucléaires basophiles). Lors d'un nouveau contact avec l'antigène, ces anticorps réagiques provoquent une dégranulation de ces cellules et une libération d'amines vasodilatatrices (histamine, 5 H.T., sérotonine) et de diverses autres substances à action pharmacologique (S.R.S.-A, Prostaglandines...) ainsi que l'activation de plasmokinines (bradykinine). L'ensemble de ces substances est responsable de la réaction locale de vasodilatation d'exsudation plasmatique et de contraction des fibres lisses.

Chez le Porc, les observations de choc anaphylactique souvent dramatique ont été fréquemment rapportées (7, 8, 9).

Dans le système Porc-Lysozyme que nous avons développé au laboratoire, l'injection de 10 mg de lysozyme par voie intraveineuse à un animal, même si cet animal ne possède pas d'anticorps anti-lysozyme décelable par hémagglutination passive, provoque la mort de cet animal par collapsus cardiovasculaire dans les minutes qui suivent l'injection d'antigène. Un traitement préalable par antihistaminique n'a aucune action préventive. Par contre, nous avons pu sauver quelques animaux en leur apportant de l'oxygène et un tonocardiaque et en pratiquant la respiration artificielle et des massages cardiaques. Cette récupération s'accompagne alors d'une réaction de vasodilatation cutanée intense se traduisant par le développement d'une coloration rouge intense aux bords bien délimités, partant des extrémités et gagnant progressivement tout le corps. Cette réaction cutanée disparaît au bout de quelques minutes. Chez les animaux immuns auxquels on injecte l'antigène par

voie intramusculaire, même émulsionné dans de l'adjuvant de Freund, le tableau clinique est différent. La réaction n'apparaît qu'après 5 minutes environ. L'animal est alors prostré, vacille sur ses membres postérieurs, présente une diarrhée profuse et des vomissements incoercibles. Des troubles respiratoires ne sont observés que chez les animaux où la réaction est intense. Ils se traduisent par une tachypnée et une dyspnée. L'œdème pulmonaire n'a pas été observé. L'animal recouvre sa vigueur dans la demi-heure qui suit sans qu'aient apparu de troubles cardiovasculaires. L'administration de l'antigène par la voie per-nasale ne provoque aucun trouble clinique.

Le caractère dramatique de ces réactions cliniques nous a conduit à tenter de délimiter la part de l'anaphylaxie, telle qu'elle peut être révélée par le test d'anaphylaxie cutanée passive (P.C.A.), de celle des réactions d'hypersensibilité immédiates du type Arthus. Dans ce rapport préliminaire, nous avons voulu définir la cinétique d'apparition des anticorps et les conditions favorisant le développement de l'hypersensibilité chez le Porc. Nos résultats concernant la caractérisation des anticorps homocytotropiques confirment les résultats obtenus par Barratt (1).

## MATERIEL ET METHODES

Le modèle immunologique est celui que nous avons décrit (3). Les tests de révélation selon le principe d'Ovary (6) ne comportent que peu de modifications par rapport à la technique décrite par Barratt (1).

Les sérums à tester sont obtenus sur porcs ayant reçu 1 mg de lysozyme émulsionné dans de l'adjuvant complet de Freund. Ces sérums ont subi une décomplémentation à 56°C pendant 20-30 mn, sauf exception où l'on n'a pas observé de différence avec les sérums chauffés. Ces sérums sont inoculés à raison de 0,1 ml à la dilution de 1/2, sauf indication contraire, à des porcs neufs, anesthésiés au Fluothane et au Protoxyde d'azote (Fluotec - France).

Les injections intradermiques sont effectuées en ligne, le long des mamelles depuis l'aisselle jusqu'à l'aîne, ainsi que sur la face interne des cuisses. Cette localisation est préférable à celle du flanc, car la réaction est plus intense, du fait de la réduction de l'épaisseur de la peau et de la couche adipeuse, de l'absence de poils et de la meilleure vascularisation. Par ailleurs, les sites sont moins exposés aux coups et aux lésions dus à des grattages intempestifs. Pour la révélation les animaux sont à nouveau anesthésiés et les injections d'antigène (10 mg de lysozyme dissous en 1 ml de solution physiologique) et de Bleu Evans (10 ml d'une solution à 1 %) sont faites 48 h. à 72 h. plus tard dans la veine marginale de l'oreille. La réaction apparaît entre la 2<sup>e</sup> et la 30<sup>e</sup> minute qui suit l'injection.

## RESULTATS

### 1/ Caractère précoce des anticorps sensibilisants :

La cinétique normale des anticorps anti-lysozyme détectés par hémagglutination passive a été décrite (3) ainsi que la séquence d'apparition des IgM puis des IgG chez le Porc. Les sérums provenant des saignées suivant les injections primaires et secondaires de lysozyme ont été testés pour leur activité homocytotropique. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 1. Ils montrent que la cinétique d'apparition des anticorps sensibilisants suit la cinétique d'apparition des anticorps IgM anti-lysozyme. En effet, les réactions positives n'ont été détectées que pour les sérums prélevés 3 et 4 semaines après l'administration d'antigène et ceux obtenus 8 jours après l'injection de rappel. On peut noter, en outre l'indépendance des titres en anticorps sensibilisants et des titres en anticorps hémagglutinants.

### 2/ Détermination de la taille des anticorps homocytotropiques :

La séparation des anticorps a été effectuée selon leur masse moléculaire par une gel-filtration sur Bio-Gel A 1,5 m. Les fractions recueillies ont été concentrées par dialyse sous vide afin de les ramener au volume initial. Les résultats sont rapportés à la figure 2. Les tests d'anaphylaxie cutanée passive montrent que les IgM ne présentent aucune activité alors qu'une certaine activité a été retrouvée, faible, mais significative au début du pic d'éluion des anticorps 7 S.



### 3/ Sensibilité de la réaction au chromoglycate de sodium :

Le chromoglycate de sodium a été utilisé chez l'homme afin d'inhiber la libération d'histamine et de SRS-A au cours des manifestations allergiques. Nous avons tenté de savoir si cette substance avait les mêmes effets chez le Porc. Pour cela, 4 porcs sont inoculés par voie intradermique à l'aide de sérums positifs correspondant à des saignées précoces (2<sup>e</sup> semaine), deux animaux recevant les injections de sérum dilué au 1/2, les deux autres recevant les sérums dilués au 1/10<sup>e</sup>. 72 heures plus tard, les animaux reçoivent l'antigène par voie intraveineuse. Préalablement à l'antigène, un porc sur les deux correspondant à chaque dilution d'antisérum, reçoit par voie intraveineuse une dose de 100 mg de chromoglycate de sodium (Rynacrom, de chez Fisons) dissous extemporanément en solution physiologique.

Chez les animaux qui n'ont pas reçu de chromoglycate, la réaction locale apparaît en 3-5 minutes et atteint un diamètre de 3 et de 6 cm en une dizaine de minutes, selon la dilution de l'antisérum. Chez les porcs ayant reçu le chromoglycate, on observe une inhibition de la réaction de P.C.A. Cette inhibition est totale pour les dilutions de sérum au 1/10<sup>e</sup>, elle n'est que partielle pour les dilutions au 1/2.

### 4/ Rôle de la voie d'injection de l'antigène :

La voie d'immunisation n'a que peu d'importance en relation avec le niveau d'immunité atteint chez le Porc (3). Nous avons tenté de savoir si l'apparition des anticorps homocytotropiques pouvait être favorisée par l'une ou l'autre de ces voies. Nous avons ainsi comparé les saignées successives effectuées chez les animaux immunisés par les diverses voies : intraveineuse, intramusculaire, intradermique, sous-cutanée et nasale. Au cours de cette expérience, seuls les animaux immunisés par voie intradermique ont présenté une réaction positive.

Les sérums des animaux qui ont été immunisés sans adjuvant complet de Freund se sont révélés négatifs en P.C.A. alors qu'ils contiennent des anticorps hémagglutinants.

Enfin au cours de ces dernières expériences, un des porcs s'est montré parfaitement anergique, aucun des tests essayés sur lui ne s'est trouvé positif.

## DISCUSSION

La réaction d'anaphylaxie cutanée passive (P.C.A.) peut donc être utilisée chez le Porc pour révéler l'existence des réagines. Les conditions expérimentales que nous décrivons, bien que non nécessairement optimales nous ont semblé satisfaisantes.

Les premiers résultats obtenus confirment donc l'existence des anticorps homocytotropiques du porc. Ces réagines apparaissent précocement au cours de la réponse immunitaire contre le lysozyme. Nous avons pu mettre en évidence au cours de la réaction primaire et de la réaction secondaire. Il ne s'agit cependant pas d'anticorps IgM car leur comportement en chromatographie les rapproche des anticorps 7 S. La nature exacte de ces réagines reste à préciser, en effet, BARRATT n'a pas pu les distinguer des IgA sur la base d'absorption à l'aide d'antisérums spécifiques (1).

Les anticorps homocytotropiques étudiés chez les autres animaux de laboratoire appartiennent à deux classes d'anticorps les IgG et les IgE. Ils se distinguent entre eux par leur résistance à la chaleur et aux agents réducteurs ainsi que par leur temps optimum de sensibilisation des cellules : les IgE persistant plusieurs jours alors que les IgG disparaissent après quelques heures (4, 5). Dans le cadre de notre travail nous avons sans doute analysé les IgE car nous avons observé la réaction après 48 ou 72 heures de sensibilisation. La décomplémentation que nous avons fait subir à nos sérums ne semble pas suffisante pour détruire la totalité des IgE. Des expériences sont actuellement en cours pour déterminer l'existence éventuelle d'une sous-classe d'IgG responsable elle aussi, de phénomènes d'anaphylaxie. Le chromoglycate de sodium peut être utilisé chez le Porc pour combattre certains phénomènes d'anaphylaxie, alors qu'il est inopérant dans le phénomène d'Arthus ou dans la réaction d'hypersensibilité retardée (résultats non publiés). De même que les antihistaminiques se sont montrés peu efficaces lors de chocs anaphylactiques lors d'injection d'antigène à des animaux immuns. Enfin, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'anticorps homocytotropiques lorsque le lysozyme injecté n'a pas été émulsionné dans de l'adjuvant complet de Freund. L'emploi pratique de ces immunostimulants doit donc être contrôlé quant à l'aptitude à faire apparaître des anticorps homocytotropiques, étant donné le caractère dramatique des réactions d'hypersensibilité lors de rappels d'antigène.

Ce travail a été réalisé en partie avec le support financier d'un contrat de la Communauté Economique Européenne.

### BIBLIOGRAPHIE

- (1) BARRATT M.E.J. - Immunology 1972, **22**, 601.
- (2) BUXTON A. et J.R. Th. Res. Vet. Sci. 1961, **2**, 73.
- (3) HOUDAYER M., ROUZE P., et METZGER J.J. - 3ème Congrès International de Médecine Vétérinaire porcine, Lyon 1974.
- (4) ISHIZAKA K. et ISHIZAKA T. J.-Imm. 1967, **99**, 1187.
- (5) MOTA I., SADUN E.H., BRADSHAW R.M. et gore R.W. Immunology 1969, **16**, 71.
- (6) OVARY Z., BENACERRAF B. et BLOCH K.J. - J. Exp. Med., 1963, **117**, 951.
- (7) SHREEVE B.J. et THOMLINSON J.R. - J. Med. Microbiol., 1970, **3**, 377.
- (8) THOMLINSON J.R. et BUXTON A. - Immunology 1963, **6**, 126.
- (9) WELLS P.W., PASS D.A. et EYRE P. - Res. Vet. Sci., 1974, **16**, 347.