

*Bull. Acad. Vét. de France*, 1991, 64, 453-458

## COMMUNICATION

---

### **Modifications de l'électrophorèse des protéines sériques dans la dirofilariose canine à *Dirofilaria immitis*, *Dirofilariose repens* et infestation mixte**

par Bernard DAVOUST\*, Thérèse FOULON\*\*,  
Jean-Pierre LOUBOUTIN-CROC\*\*\*, Jacques DUCOS DE LAHITTE\*\*\*\*  
Paule GROSLAMBERT\*\*\*\*\* et Paul GROULADE\*\*\*\*\*

---

#### RÉSUMÉ

L'électrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose (migration de 4 heures, bande et courbe de même longueur) a été réalisée sur 4 groupes de chiens: 1. Non infestés. 2. Infestés par *Dirofilaria immitis*. 3. Infestés par *Dirofilaria repens*. 4. Infestation mixte. L'étude statistique des résultats indique une augmentation significative des globulines gamma pour les groupes 2 et 4.

*Mots clés* : Electrophorèse des protéines - Dirofilariose - Chien.

#### SUMMARY

SERUM PROTEINS ELECTROPHORESIS CHANGES IN DOGS INFECTED WITH *DIROFILARIA IMMITIS*, WITH *DIROFILARIA REPENS* AND WITH BOTH OF THEM

Serum proteins electrophoresis on cellulose acetat (four hours migration, same length for bands and curves) was carried out on four groups of dogs.

---

\* Service Vétérinaire des Garnisons, 48, rue Capitaine Galinat - 13998 Marseille Armées.

\*\* Biochimie Médicale A, CHRU, BP 217 X, 38043 Grenoble Cédex.

\*\*\* Service de Médecine des Collectivités, Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé, Parc du Pharo - 13998 Marseille Armées.

\*\*\*\* Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale Vétérinaire, 23, chemin des Capelles - 31076 Toulouse Cédex.

\*\*\*\*\* Biochimie Médicale A, CHRU, BP 217 X - 38043 Grenoble Cédex.

\*\*\*\*\* 11, rue Ernest-Cresson - 75014 Paris.

Group 1 : not infected, group 2 : only infected with *Dirofilaria immitis*, group 3 : only infected with *Dirofilaria repens* and group 4 : infected with both of them.

A statistic study shows that the serum globulins level rises to a significative value in groups two and four.

*Key words* : Proteins electrophoresis - Dirofilariosis - Dog.

## INTRODUCTION

Les modifications de l'électrophorèse des protéines sériques dans la dirofilariose canine à *Dirofilaria immitis* (D.I.), *Dirofilaria repens* (D.R.) et infection mixte, ont fait l'objet de peu d'observations à notre connaissance [1, 2]. Aussi avons-nous pensé intéressant de présenter les résultats des examens électrophorétiques pratiqués sur des sérums récoltés au cours d'une enquête épidémiologique [3].

## MATERIEL ET METHODES

### A. ANIMAUX

Notre étude a porté sur 42 chiens militaires, essentiellement des bergers allemands, et des bergers belges, mâles, âgés de 2 à 10 ans ( $\bar{m}$ = 6 ans) répartis en 4 groupes :

- Groupe 1 : 10 chiens non infestés par *Dirofilaria* provenant de chenils situés dans les Bouches-du-Rhône (Miramas), le Gard (Nîmes), et le Var (Hyères).
- Groupe 2 : 10 chiens infestés par *Dirofilaria immitis* recrutés dans les Bouches-du-Rhône (Miramas, Tarascon, Istres) et en Corse (Solenzara).
- Groupe 3 : 11 chiens infestés par *Dirofilaria repens* stationnés dans les Bouches-du-Rhône (Miramas, Salon-de-Provence, Istres) et le Var (Hyères).
- Groupe 4 : 11 chiens infestés par *D. immitis* et *D. repens* en provenance des Bouches-du-Rhône (Salon-de-Provence, Istres), du Var (Hyères) et de Corse (Solenzara).

Aucun chien filarien ne présentait de symptômes cliniques.

### B. LES PRÉLÈVEMENTS SANGUINS

Le sang prélevé à la veine radiale, sur Complexon (Ethylène Diamine Tetra Acétique), permet la mise en évidence directe des microfilaires et leur identification. Un tube sec est utilisé pour recueillir le sérum qui est conservé à - 20 °C.

Ces prélèvements ont été effectués début 1988.

### C. LE DÉPISTAGE DE LA DIROFILARIOSE

Le sang a été analysé au Laboratoire de Parasitologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse.

- *Mise en évidence directe des microfilaires*

La méthode par filtration (Filarassay N.D.) a été choisie. Elle utilise un filtre dont les pores sont de 3 microns. Il s'agit d'un moyen de détection aussi sûr que la méthode de Knott mais qui présente l'avantage d'être rapide à exécuter et de lecture plus simple.

- *Identification histochimique des microfilaires*

Cette technique permet après fixation par l'acétone à froid et coloration avec de l' $\alpha$  Naphthyl ASTR Phosphate de mettre en évidence des zones d'activité phosphatasique acide colorées en rouge brique :

*Dirofilaria immitis* : seuls les pores excréteur et anal sont colorés.

*Dirofilaria repens* : coloration limitée au pore anal.

### D. TECHNIQUE DE L'ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES

L'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée dans un appareil à évaporation réduite sur acétate de cellulose gélifié (cellogel Sébia), tampon à pH 9,6, voltage 220 volts aux bornes du générateur, intensité de 12 mA pour 11 bandes, durée de 4 heures environ sur des bandes de 170 x 25 mm pour obtenir une longueur de migration de 80 mm environ, coloration avec Aminoschwartz 10 B Merck, lecture densitométrique sur Cellosystem 2 exprimée par une courbe de même longueur que la migration.

## RÉSULTATS

L'analyse statistique a été réalisée suivant la méthode générale de comparaison de plusieurs moyennes et traitée par analyse de la variance sur séries indépendantes (Test de Newman et Keuls).

Au seuil  $\alpha = 0,01$ , les 4 groupes de chiens ne sont pas statistiquement différenciables en ce qui concerne les valeurs moyennes du taux d'albumine ainsi que des globulines Alpha 1, Alpha 2, Bêta 1/2 et Bêta 3.

En revanche, le taux moyen de gammaglobulines des chiens du groupe à infestation mixte *D. immitis* et *D. repens* (22%) est statistiquement différent de celui du groupe de chiens non infestés (15%) et du groupe de chiens infestés par *D. repens* (14%). Il n'est pas différenciable du taux moyen des chiens infestés par *D. immitis* (19%).

Le test non paramétrique correspondant (test H de Kruskal et Wallis) donne le même résultat.

Tableau I  
Taux moyen des protéines sériques de chiens groupés  
suivant leur infestation par *Dirofilaria immitis*  
et/ou *D. repens*.

	ALBUMINES (en %)	ALPHA 1	ALPHA 2	BETA 1/2	BETA 3	GAMMA
<b>GRUPE 1 :</b> CHIENS NON INFESTES PAR <u>DIROFILARIA</u> (N = 10)	43	6,4	10	11	14	15
<b>GRUPE 2 :</b> CHIENS INFESTES PAR <u>DIROFILARIA IMMITIS</u> (N = 10)	39	7,6	8,5	10	15	19
<b>GRUPE 3 :</b> CHIENS INFESTES PAR <u>DIROFILARIA REPENS</u> (N = 11)	44	7,4	10	11	13	14
<b>GRUPE 4 :</b> CHIENS INFESTES PAR <u>D. IMMITIS</u> ET <u>D. REPENS</u> (N = 11)	39	5,6	8	11	15	22

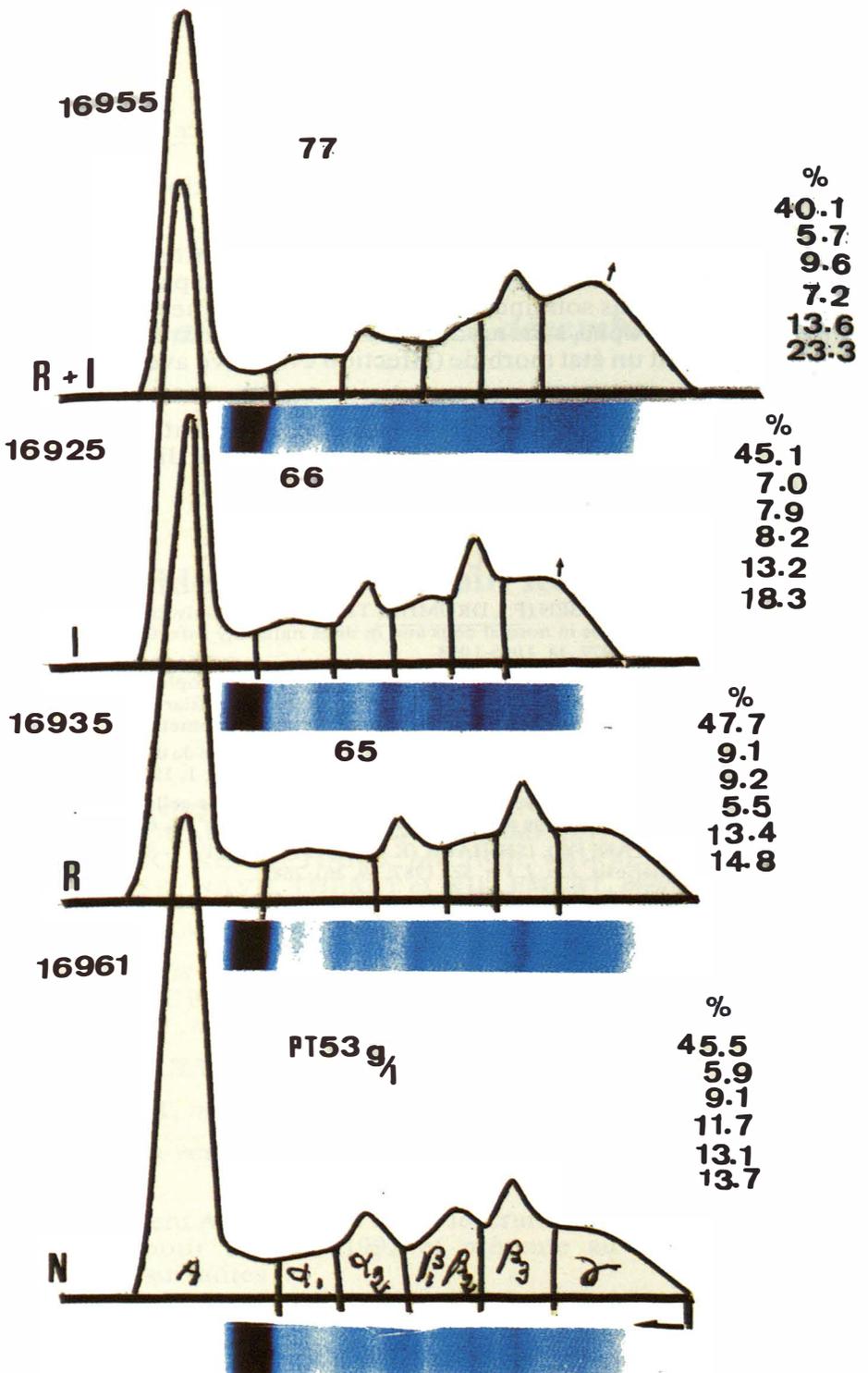
## DISCUSSION

Il a paru nécessaire de prendre comme témoin, un lot de chiens cliniquement normaux non infestés vivant dans la même région, dans les mêmes conditions d'entretien et d'activité que les chiens infestés par D.I., D.R., ou D.I. + D.R. Nous pensons qu'ainsi l'infestation peut être retenue comme responsable des modifications électrophorétiques mises en évidence.

La seule variation prise en compte par l'analyse statistique dans cette étude est l'augmentation de la gammaglobuline pour les cas où D.I. est en cause, ce qui est en accord avec une constatation antérieure [2]. Par contre, J.A. Barsanti et coll. [1] signalent chez un groupe de 40 chiens infestés par D.I., une augmentation de la zone Bêta (surtout Bêta<sub>2</sub>, d'après le tracé).

Hitoschi Kitagawa et coll. [5] indiquent une baisse de l'haptoglobine chez les chiens atteints de dirofilariose (D.I.) aiguë ou chronique, en rapport avec une hémolyse intravasculaire. Ce fait peut expliquer le faible taux de la globuline Alpha<sub>2</sub> chez 3 de nos sujets du groupe II (D.I.).

L. Picart [6] a constaté une augmentation en pic de la globuline Alpha<sub>2</sub> au cours du traitement par la mélsarsamine, de la troisième à la dixième



De bas en haut :

Figure 1

16961 : chien normal non infesté.

16935 : chien infesté par *Dirofilaria repens* (D.R.) :

Aucune modification significative par rapport au précédent.

16925 : chien infesté par *Dirofilaria immitis* (D.I.) :

les globulines gamma sont augmentées.

16955 : chien infesté par *Dirofilaria immitis* et *repens* :

la maintenance des globulines gamma est plus importante.

semaines, sans doute en relation avec une inflammation secondaire à l'embolisation des parasites.

En ce qui concerne *Dirofilaria repens*, la différence entre les résultats de cette étude et ceux publiés antérieurement [2], s'explique par l'état clinique des sujets. Ici, les chiens sont indemnes de signes cliniques (affection non évolutive, globuline Alpha, sans modification), alors que le chien de l'étude antérieure présentait un état morbide (affection évolutive avec une réaction Alpha<sub>2</sub> marquée).

L'ensemble de ces résultats confirme qu'une modification électrophorétique de la zone Alpha<sub>2</sub> chez un chien atteint de dirofilariose est l'indication de l'existence d'une lésion organique active.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] BARSANTI (J.A.), KRISTENSEN (F.), DRUMHELTER (F.B.). - Analysis of sérum proteins, using agarose electrophoresis in normal dogs and in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Am. J. Vet. Res.*, 1977, 38, 1055-1058.
  - [2] GROULADE (P.), GROSLAMBERT (P.), FOULON (Th.). - Electrophorèse des protéines sériques sur acétate de cellulose dans deux cas cliniques suivis de dirofilariose canine (immitis 44 mois et repens, 43 mois). *Prat. Méd. Chir. Ani. Comp.*, 1990, supplément n° 4, 333-336.
  - [3] DAVOUST (B.), DUCOS DE LAHITTE (J.). - Evolution de l'enzootie de dirofilariose dans les chenils militaires du sud-est de la France. *Revue Méd. Vét.*, 1989, 140, 1, 15-19.
  - [4] GROULADE (J.) in MILANO (J.M.). - Electrophorèse sur acétate de cellulose des protéines sériques de l'homme normal. Thèse de Médecine, Grenoble, 1974, n° 28, 68 pages.
  - [5] KITAGAWA (H.), SAVAKI (Y.), ISHIHARA (K.), UCHIYAMA (T.). - Serum haptoglobin levels in canine dirofilariosis. *Jap. J. Vet. Sc.*, 1987, 49, 261-268.
  - [6] PICART (L.). - Essai de traitement de la filariose cardiovasculaire du chien par l'utilisation de la mélsamine. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1990, 106 pages.
-