

**Utilisation d'un nouvel antigène
pour le séro-diagnostic de la Toxoplasmose
des animaux domestiques,
par la méthode d'agglutination de FULTON**

par J. GUILHON, G. JOLIVET et A. MARCHAND

La Toxoplasmose, protozoose du système réticulo-histocytaire, commune à l'homme et aux animaux, est apparue depuis plusieurs années beaucoup plus répandue qu'on ne le supposait et de nombreuses méthodes de diagnostic furent proposées non seulement pour confirmer la présence des Toxoplasmes (*Toxoplasma gondii* NICOLLE et MANCEAUX, 1908) dans l'organisme des malades, mais aussi pour dépister les infectés chroniques, asymptomatiques, et entreprendre des enquêtes épidémiologiques.

Les diverses techniques employées : Dye-test de SABIN et FELDMAN ou test de lyse parasitaire de DESMONTS, fixation du complément, hémagglutination passive, immuno-fluorescence indirecte, intra-dermoréaction avec la toxoplasmine de FRENKEL ont été plus ou moins largement utilisées et le sont encore, mais avec une prédilection variable en rapport avec les correctifs dictés par l'expérience acquise.

Par ailleurs si toutes les méthodes de diagnostic ont leurs avantages et leurs inconvénients, c'est généralement vers la simplification des opérations, la rapidité de leur exécution et l'obtention plus régulière de réponses comparables, facilement lisibles, que les tentatives d'amélioration sont orientées.

Pour atteindre cet objectif il est évidemment indispensable d'avoir à sa disposition un antigène standardisé, riche en parasites, de façon à comparer d'une manière aussi significative que possible l'évolution quantitative des anticorps produits par l'hôte durant les diverses phases de la maladie, en relation avec la multiplication des Toxoplasmes, *in vivo*, aussi bien chez l'homme que chez les animaux.

Or, comme l'ont écrit récemment Y. GOLVAN et coll. (1) : « *Il n'existe pas actuellement en France d'antigène commercialisé convenable ; la pratique des tests de Toxoplasmose reste subordonnée à l'entretien d'une souche de parasites, au laboratoire.* » Cette lacune est depuis peu comblée, fort heureusement, grâce aux travaux récents de P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ. Ces auteurs ont en effet montré, en 1967-1968-1969, les possibilités d'utilisation du sarcome TG 180 de la souris pour l'obtention régulière de cultures abondantes de Toxoplasmes provenant de deux souches : l'une de l'Institut Pasteur (RH n° B 12), l'autre également virulente isolée, en mai 1966, à l'Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris (1).

A partir des souris sarcomateuses inoculées, P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ obtiennent soit des suspensions de nombreux Toxoplasmes intra-cellulaires, soit un liquide ascitique presque sans cellules, mais très riche en protozoaires libres : 500 millions à 1 milliard de Toxoplasmes par souris infectée au lieu de 25 millions, environ, dans l'organisme des souris normales.

S'étant assurés ainsi, grâce à un artifice de culture, *in vivo*, d'une grande production de Toxoplasmes, P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ ont tenté avec cet abondant matériel d'obtenir un antigène standardisé capable de satisfaire aux exigences de la plupart des réactions couramment employées. Cet antigène, actuellement fabriqué industriellement et mis à la disposition des laboratoires, renferme des parasites recueillis vivants et apparemment non altérés. Leur intégrité morphologique et leur pouvoir antigénique persistent pendant plusieurs mois s'ils sont lavés, mis en suspension dans un tampon phosphate sodique puis formolés à 0,2 p. 100 et conservés à + 4°.

L'antigène figuré ainsi obtenu avec préservation des sites membranaires est sans danger et prêt à l'emploi pour les réactions d'immuno-fluorescence et pour le Test d'agglutination de FULTON.

De plus des Toxoplasmes peuvent être lysés dans l'eau distillée et être employés en suspension isotonique pour servir d'antigène dans les réactions de fixation du complément, d'hémagglutination passive et d'immuno-diffusion.

(1) Y. J. GOLVAN et E. DROUHET : Technique en Parasitologie et en Mycologie. Médecine, Science, Flammarion, 1972.

(1) A partir d'une malade atteinte d'une anémie hémolytique hospitalisée à l'Hôpital intercommunal de Créteil (Val-de-Marne).

Il est bien évident, comme le soulignent P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ, dans leur travail, que l'intérêt de la suspension pure de Toxoplasmes est d'être standardisable soit par numération, soit par mesure de la densité optique, soit enfin par appréciation du volume du culot.

Les nombreux avantages réunis par cet antigène formolé et inoffensif nous ont incité à l'employer pour entreprendre des enquêtes épidémiologiques sur la Toxoplasmose chronique de différentes espèces animales.

Pour recueillir les premiers résultats nous avons combiné l'emploi de l'antigène toxoplasmique formolé de P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ avec la méthode d'agglutination de FULTON. Les divers temps de la technique utilisée peuvent être résumés, simplement, comme ci-après :

1) récolte du sang sur des animaux à jeun depuis le soir précédent l'intervention ;

2) coagulation dans des flacons à large goulot à la température du laboratoire (environ 20°) ;

3) congélation des sérums à - 20° jusqu'à l'obtention de plusieurs dizaines de prélèvements ;

4) décongélation des sérums à la température du laboratoire ;

5) dépôt d'une goutte de 0,025 ml, à l'aide d'une pipette Rossignol, dans les cavités en V de la première rangée d'une plaque pour microtitration, en matière plastique ;

6) dépôt d'une goutte d'égal volume d'un tampon B. A. B. S. (1) stérile, pH 9, formolé à 0,2 p. 100 dans chaque cavité ;

7) microdilution, par dédoublements successifs, à partir du sérum tamponné et agitation du liquide grâce aux tiges à tulipes d'un microdilueur à main ;

8) dépôt d'une goutte (0,025 ml) d'antigène formolé de P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ dans chacune des cavités ;

9) les plaques après cette dernière opération sont couvertes et placées durant 8 à 12 heures, dans une atmosphère humide, à la température du laboratoire ;

10) lecture des résultats par examen, à l'œil nu, du liquide (sérum + tampon + antigène) contenu dans chaque cavité de la plaque.

(1) Tampon boraté sodique additionné d'albumine bovine.

Avec cette technique 86 sérums de Carnivores furent testés : 72 provenant de chiens de races et de sexes différents, âgés de 18 mois à 7 ans, d'origines diverses et 14 sérums de chats sacrifiés au Service d'Anatomie-pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-après.

	Nombre d'animaux testés	Positifs			Négatifs	Douteux
		1/4	1/8	1/16		
Chiens.....	72	31	5	1	23	12
Chats.....	14	6	2	1	5	0

Si l'on compare les résultats antérieurs indiqués par P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ avec des sérums humains et des sérums de souris infectées expérimentalement à ceux que nous avons obtenus, avec la même technique, à partir des sérums de Carnivores, il apparaît que les agglutinations positives des sérums dilués au 1/4 indiqueraient une infection chronique ancienne, alors que la positivité à des taux supérieurs (sans doute 1/64) laisserait entendre que l'infection toxoplasmique est plus récente. Des examens plus nombreux permettront de se faire une opinion plus précise sur la valeur de cette technique.

Par ailleurs l'emploi du 2 mercapto-éthanol a permis de dépister un autre cas positif parmi les 12 sérums canins qui avaient donné des réponses douteuses.

CONCLUSION

Dans cette note préliminaire il nous a paru intéressant de faire connaître l'existence du nouvel antigène toxoplasmique formolé de P. COUZINEAU et H. BAUFINE-DUCROCQ et de montrer tout son intérêt pour entreprendre des enquêtes épidémiologiques sur les Toxoplasmoses animales. En effet la réaction d'agglutination est très simple, rapide ; de plus elle n'exige ni matériel compliqué, ni réactifs délicats à manipuler tels que, par exemple, le conjugué fluorescent ou facteur accessoire.

*Service de Parasitologie,
Ecole Nationale Vétérinaire,
94701 Alfort.*

BIBLIOGRAPHIE

- COUZINEAU (P.) et BAUFINE-DUCROCQ (H.). — Etude des possibilités d'utilisation du sarcome TG 180 de la souris. Application à la Toxoplasmose. *Ann. Parasit. hum. Comp.* 1969, 54, 217-224.
- COUZINEAU (P.), BAUFINE-DUCROCQ (H.), PELOUX (Y.) et DESMONTS (G.). — Séro-diagnostic de la Toxoplasmose par agglutination directe. Nouvelle Presse Médicale (sous presse).
- FULTON (J. D.) et TURCK (J. L.). — Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 1959, 11, 1068-1069.
-