

r. 70, n° 4, Suill. - Aout 1977  
COMMENTAIRE

La rareté des cas de chromomycose décrits jusqu'à ce jour en Afrique équatoriale semble indiquer que la « prévalence » réelle de cette infection est très sous-estimée. Ceci tient peut-être à la méconnaissance de la morphologie des lésions cliniques par les médecins traitants, ou plus sûrement à leur manque d'informations concernant les techniques de conservation et d'expédition des prélèvements biopsiques, le diagnostic sérologique ne pouvant être réalisé actuellement en dehors de laboratoires très spécialisés.

Pourtant ces techniques simples peuvent être aisément réalisées même dans des conditions précaires : chaque biopsie, suffisamment large et profonde, pratiquée en périphérie des lésions récentes doit être répartie à la fois :

- dans un tube d'eau physiologique glycérolisée stérile pour la culture,
- dans un tube contenant un fixateur (Bouin ou plus simplement formol à 10 O/O dans l'eau physiologique) pour l'étude histologique.

Le diagnostic de certitude ainsi obtenu permettra alors au médecin d'instituer un traitement qui est, aujourd'hui, efficace (5 fluorocytosine à poursuivre pendant plusieurs mois) et sans lequel l'infection s'aggraverait progressivement.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BRYGOO (R.) et DESTOMBES (P.). — Epidémiologie de la chromoblastomycose humaine. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1976, 74, 219-243.
2. DESTOMBES (P.), RAVISSE (P.) et NAZIMOFF (O.). — Bilan des mycoses profondes établi en vingt années d'histopathologie à l'Institut Pasteur de Brazzaville. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1970, 63 (3), 315-324.

02 a B

#### ENQUÊTE SÉROLOGIQUE

##### SUR LES RICKETTSIOSSES ANIMALES AU CAMEROUN (\*)

I. Évaluation du seuil de positivité et de la spécificité de la réaction de micro-agglutination en fonction de la taille des animaux.

Par P. LE NOC, A. RICKENBACH, P. RAVISSE et D. LE NOC (\*\*)

Si le rôle des mammifères sauvages dans l'épidémiologie des rickettsioses a déjà été démontré dans un certain nombre de pays (1), les enquêtes africaines cherchant à déterminer les espèces animales jouant un rôle possible de réservoir de virus sont moins nombreuses, et en dehors de l'Égypte (5, 6) ou du Kenya (4) où des études poussées ont été faites, elles ne fournissent souvent que des renseignements fragmentaires.

(\*) Travail du Laboratoire de Microbiologie du Centre Universitaire des Sciences de la Santé et de l'Institut Pasteur du Cameroun (Directeur : Dr. P. RAVISSE).

(\*\*) Séance du 12 octobre 1977.

28 oct - 85  
O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 18 738 37  
Cote : B el

Dans le cadre des enquêtes immunologiques pratiquées par l'Institut Pasteur du Cameroun sur les arboviroses, de nombreux sérums de mammifères sauvages sont prélevés et examinés par le Service de virologie de cet Institut. Il nous a paru intéressant d'utiliser également ces sérums pour une enquête sur les rickettsioses animales au Cameroun, afin d'essayer de préciser le réservoir animal des deux principales rickettsioses humaines rencontrées dans ce pays (Typhus murin et Fièvre boutonneuse) et de dépister l'éventuelle circulation d'autres espèces rickettsiennes.

La technique de base de cette enquête sérologique a été la réaction de micro-agglutination, mais comme cette enquête a intéressé des mammifères de taille variable (des singes aux petits muridés sauvages), il nous a semblé indispensable d'évaluer, dans une étude préliminaire, les titres de positivité en micro-agglutination à considérer comme significatifs selon la taille des animaux, et de contrôler la spécificité de cette réaction en testant un certain nombre de sérums positifs par réaction de fixation du complément et d'immunofluorescence indirecte, ceci devant nous permettre ultérieurement une interprétation correcte des résultats de notre enquête.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

603 sérums ont été étudiés, 149 provenant de mammifères de taille moyenne (singes, Jémuriens, petites antilopes), 454 provenant de petits mammifères (rongeurs, écureuils, chauve-souris...).

Les animaux, capturés par les équipes du service d'Entomologie de l'O. R. S. T. O. M., ont été saignés sur place. Les sérums, immédiatement décantés, ont été conservés au froid jusqu'à leur retour à l'Institut Pasteur, les tournées de capture pouvant durer plusieurs jours.

Ces sérums ont été étudiés de la manière suivante :

— Par micro-agglutination sur lame (M. A.) :

Les antigènes utilisés (*R. prowazeki*, *R. mooseri*, *R. conori* et *R. burneti*) sont les antigènes commercialisés par Institut Pasteur Production (Paris), et la technique suivie est celle qui est préconisée pour l'emploi de ces antigènes.

Les sérums décomplémentés ont été testés en réaction qualitative d'abord (criblage au 1/20), puis en réaction quantitative (1/40 à 1/320) pour les sérums trouvés positifs au criblage.

— Par réaction de fixation du complément (R. F. C.) :

Un certain nombre de sérums positifs en M. A. ont été testés, lorsque leur qualité le permettait, en R. F. C. vis-à-vis de l'antigène pour lequel avait été obtenue une réponse. Les antigènes utilisés sont les antigènes solubles pour R. F. C. (antigène *Prowazeki-Mooseri*, antigène *Conori* et antigène *Burneti*) commercialisés par Institut Pasteur Production. Les réactions ont été pratiquées en microméthode, sur plaques à usage unique, par la technique de Kolmer à chaud, les réactifs étant distribués à la micropipette de Cooke. Les passages à 37° ont été effectués au bain-marie.

— Par réaction d'immuno-fluorescence indirecte (I. F. I.) :

Cette réaction a été pratiquée sur un certain nombre de sérums de rats et de singes trouvés positifs en M. A.

— Les frottis de rickettsies (*R. mooseri*, *R. conori*, *R. burneti*) ont été préparés par apposition sur lame de fragments de membranes vitellines riches en rickettsies, fournies par le service des Rickettsies de l'Institut Pasteur de Paris (D<sup>r</sup> CAPPONI) et conservées congelées à  $-30^{\circ}\text{C}$ . Les frottis, fixés à l'acétone, ont été conservés à la même température.

— Les conjugués utilisés ont été les globulines de lapin (antiglobulines de rat ou antiglobulines de singe) marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine et commercialisées par Institut Pasteur Production. La dilution des conjugués a été faite au 1/100.

— Les sérums ont été testés à trois dilutions (1/20, 1/40, 1/80). Quelques réactions d'I. F. I. vis-à-vis de *R. prowazeki* ont été effectuées par le Service des Rickettsioses de l'Institut Pasteur de Paris.

## RÉSULTATS

### 1. — Résultat des micro-agglutinations qualitatives.

Le tableau I indique le résultat de celles-ci :

Sur 603 sérums testés, 469 (77,7 0/0) n'ont agglutiné aucun antigène rickettsien alors que 134 (22,2 0/0) ont donné une réponse en criblage. Parmi ceux-ci, 124 donnaient une réponse pour un seul antigène, 10 donnaient une réponse pour 2 antigènes.

L'étude ultérieure des sérums retenus après criblage a été faite en 2 fractions, le lot des sérums répondant à un seul antigène (124) et le lot des sérums répondant à deux antigènes (10).

TABLEAU I  
Résultats du criblage au 1/20.

	Nombre de sérums testés	Sérums négatifs	Sérums répondant au 1/20 à		
			1 antigène	2 antigènes	Total
Mammifères de taille moyenne . . . . .	149	120	29	0	29
Mammifères de petite taille . . . . .	454	349	95	10	105
Total . . . . .	603	469	124	10	134

### 2. — Résultats de la micro-agglutination quantitative des sérums agglutinant un seul antigène et évaluation de la réponse.

Les résultats de la micro-agglutination quantitative des 124 sérums, obtenus pour chaque type d'antigène, sont détaillés au tableau II.

Chez les mammifères de taille moyenne : les titres habituellement considérés comme significatifs en micro-agglutination sont ceux retenus chez l'homme, soit 1/320 pour *R. prowazeki*, 1/160 pour *R. mooseri* et *R. conori*, 1/120 pour *R. burneti*. Dans notre enquête, aucun sérum de ce groupe animal n'agglutinait *R. prowazeki* au-delà du 1/40, et devant ce titre trop faible, l'étude de ces sérums n'a pas été poursuivie. Par contre, trois des quatre sérums agglutinant *R. mooseri* et les cinq sérums agglutinant *R. conori* à partir du 1/80 (titre juste inférieur au titre considéré comme valable), le sérum agglutinant *R. burneti* au 1/20 ont été contrôlés en R. F. C. et I. F. I. (tableau III).

Ce contrôle montre que la micro-agglutination peut effectivement être considérée comme positive et spécifique d'une atteinte rickettsienne, dans ce groupe animal, à partir du 1/160 pour *R. mooseri* et *R. conori*, et à partir du 1/20 pour *R. burneti*. C'est à partir de ces titres qu'on observe des réponses positives en R. F. C. ou I. F. I. confirmant la micro-agglutination.

Chez les petits mammifères : les titres de M. A. pouvant être considérés comme significatifs étant moins bien définis, un certain nombre de sérums agglutinant à partir du 1/20 l'un ou l'autre des antigènes rickettsiens a également été contrôlé par d'autres techniques sérologiques : douze sérums de rats ont ainsi été étudiés en R. F. C. et I. F. I. (tableau IV), cinquante-trois sérums d'autres petits mammifères en R. F. C. uniquement (tableau V), soit 65 des 95 sérums positifs au criblage au 1/20. Les autres sérums ont dû être éliminés pour quantité insuffisante, hémolyse ou pouvoir anticomplémentaire.

Les tableaux IV et V montrent que la M. A. peut être considérée chez les petits mammifères comme positive et spécifique d'une atteinte rickettsienne à partir du 1/40 pour *R. mooseri* et *R. conori* ; à partir de ces titres, on observe chez les rats des réactions positives en R. F. C. et I. F. I. confirmant la M. A., et des réponses en R. F. C. chez les autres petits mammifères. Quelques sérums positifs en M. A. au 1/40 ou 1/80 restent négatifs en R. F. C., mais il peut s'agir dans ces cas d'infections anciennes. On sait en effet que la M. A. peut rester seule positive dans les infections anciennes ou même dans les infections chroniques ou inapparentes (2).

Le seul sérum agglutinant *R. burneti* au 1/20 était également positif en R. F. C. Pour les 2 sérums agglutinant *R. prowazeki* seul le sérum positif au 1/160 présentait également des anticorps déviant le complément.

### 3. — Résultats de la micro-agglutination quantitative des sérums agglutinant deux antigènes et évaluation de la réponse.

Des réponses à deux antigènes rickettsiens ont été observées dans 10 sérums provenant de petits mammifères. Des contrôles en réaction de fixation du complément ont également été pratiqués sur ces sérums agglutinant chaque antigène au moins au 1/20 (tableau VI).

Ce tableau montre que pour les sérums de petits mammifères répondant à deux antigènes, on retrouve le même titre significatif que précédemment pour *R. mooseri* et *R. conori* (1/40). Pour *R. prowazeki*, c'est seulement à partir des réactions de micro-agglutination positives à 1/80 qu'on observe des réactions de fixation du complément positives. C'est donc ce chiffre que nous retiendrons, par prudence, comme titre significatif pour cet antigène.

TABLEAU  
Résultats de la

	Sérums + en criblage	<i>R. provazeki</i>				
		1/20	1/40	1/80	1/160	Total
Mammifères de taille moyenne . . . . .	29	3	4	0	0	7
Petits mammifères . . . . .	95	0	1	0	1	2
Total . . . . .	124	3	5	0	1	9

TABLEAU III  
Résultats de la R. F. C. et de l'I. F. I. chez les Mammifères  
de taille moyenne.

Antigène	Résultats en M. A.	Contrôle en R. F. C.		Contrôle en I. F. I.	
		Nombre de sérums positifs	Titre	Nombre de sérums positifs	Titre
<i>R. mooseri</i>	2 sérums + à 1/80	0		0	
	1 sérum + à 1/160	1	1/16	1	1/40
<i>R. conori</i>	1 sérum + à 1/80	0		0	
	4 sérums + à 1/160	3	1/8 à 1/16	4	1/20 à 1/80
<i>R. burneti</i>	1 sérum + à 1/20	1	1/4	1	1/20

Parmi les neuf sérums présentant une double réponse à des titres significatifs, un répond à des taux identiques en M. A. et R. F. C. pour *R. provazeki* et *R. mooseri*. Du fait des réactions croisées existant entre ces deux espèces, et du fait de l'utilisation en R. F. C. d'un antigène commun, la réponse de ce sérum doit plutôt être rapportée, dans le contexte épidémiologique de notre enquête, à une infection uniquement à *R. mooseri*.

Les huit autres doubles réponses seront retenues dans les résultats d'ensemble et discutées dans la seconde partie de ce travail.

#### CONCLUSIONS

Cette étude préliminaire sur l'évaluation du seuil de positivité de la micro-agglutination et sur le contrôle de spécificité de cette réaction chez les mammi-

II  
M. A. quantitative.

<i>R. mooseri</i>					<i>R. conori</i>					<i>R. burneti</i>				
1/20	1/40	1/80	1/160	Total	1/20	1/40	1/80	1/160	Total	1/20	1/40	1/80	1/160	Total
3	2	2	2	9	5	3	1	4	13	1	0	0	0	1
19	17	4	2	42	8	14	16	12	50	1	0	0	0	1
22	19	6	4	51	13	17	17	16	63	2	0	0	0	2

TABLEAU IV  
Résultats de la R. F. C. et de l'I. F. I. sur les sérums de rats.

Antigène	Résultats en M. A.	Contrôle en R. F. C.		Contrôle en I. F. I.	
		Nombre de sérums positifs	Titre	Nombre de sérums positifs	Titre
<i>R. mooseri</i>	3 sérums + à 1/20	0		0	
	7 sérums + à 1/40	4	1/2 à 1/8	5	1/20 à 1/40
	1 sérum + à 1/80	1	1/4	1	1/40
<i>R. conori</i>	1 sérum + à 1/80	1	1/8	1	1/40

fères sauvages par d'autres méthodes sérologiques (R.F.C., I.F.I.), nous a permis de retenir comme significatifs les titres suivants :

— chez les mammifères de taille moyenne (singe, lémuriers...), la positivité des sérums au 1/160 en M. A. pour *R. mooseri* et *R. conori*, au 1/20 pour *R. burneti* est spécifique d'une atteinte rickettsienne ;

— chez les petits mammifères (rongeurs, écureuils, chauve-souris...), la positivité des sérums au 1/40 pour *R. mooseri* et *R. conori*, au 1/20 pour *R. burneti* est spécifique d'une atteinte rickettsienne. Pour *R. provazeki*, les anticorps fixant le complément sont décelés dans les sérums agglutinant cet antigène à partir du 1/80.

Les réactions d'immunofluorescence donnent, lorsqu'elles ont pu être faites, des titres habituellement inférieurs à la micro-agglutination, décalage peut-être lié au vieillissement des sérums (3). De même, les titres de R. F. C. sont habituellement peu élevés, surtout chez les petits mammifères où ils se situent entre le 1/2 et le 1/16.

TABLEAU V

Résultats de la R. F. C. sur les sérums des autres petits mammifères.

Antigène	Résultats en M. A.	Contrôle en R. F. C.	
		Nombre de sérums positifs	Titre
<i>R. prowazeki</i>	1 sérum + à 1/40 1 sérum + à 1/160	0 1	1/16
<i>R. mooseri</i>	9 sérums + à 1/20 5 sérums + à 1/40 4 sérums + à 1/80 1 sérum + à 1/160	0 4 4 1	1/2 à 1/8 1/4 à 1/8 1/16
<i>R. conori</i>	7 sérums + à 1/20 3 sérums + à 1/40 9 sérums + à 1/80 7 sérums + à 1/160	0 6 7 7	1/2 à 1/8 1/4 à 1/16 1/4 à 1/16
<i>R. burneti</i>	1 sérum + à 1/20	1	1/4

TABLEAU VI

Titre en M. A. et R. F. C. des sérums agglutinant deux antigènes.

Antigènes agglutinés	Nombre de sérums	Antigène 1		Antigène 2	
		Titre en M. A.	Titre en R. F. C.	Titre en M. A.	Titre en R. F. C.
<i>R. prowazeki</i> (1), <i>R. mooseri</i> (2)	1	1/80	1/4	1/80	1/4
<i>R. prowazeki</i> (1), <i>R. conori</i> (2)	6	1/40 1/40 1/80 1/80 1/160 1/160	0 0 1/2 0 1/4 1/8	1/80 1/80 1/40 1/160 1/40 1/80	1/2 1/4 0 1/4 0 1/2
<i>R. mooseri</i> (1), <i>R. conori</i> (2)	2	1/20 1/40	0 1/4	1/20 1/40	0 1/2
<i>R. mooseri</i> (1), <i>R. burneti</i> (2)	1	1/80	1/2	1/40	1/4

Pour neuf sérums agglutinant deux antigènes différents, la spécificité des deux types d'anticorps devra être discutée dans le contexte général des résultats de l'enquête, du fait de la présence possible de coagglutinines entre certaines espèces de rickettsies.

Par rapport aux résultats du criblage au 1/20 (tableau I) et compte tenu des

titres que nous considérons comme significatifs, les résultats globaux de notre enquête s'établissent de la façon suivante :

— Sur 149 sérums de mammifères de taille moyenne, 7 répondent à un antigène rickettsien.

— Sur 454 sérums de petits mammifères, 68 répondent à un antigène, 8 à deux antigènes rickettsiens.

L'interprétation détaillée de ces résultats sera effectuée dans la seconde partie de ce travail.

## BIBLIOGRAPHIE

- CAPPONI (M.). — Épidémiologie des Rickettsioses. *Cah. med. vet.*, 1975, 44, 47-70.
- CAPPONI (M.). — Interprétation des réponses sérologiques dans les rickettsioses. *Med. Trop.*, 1969, 29, 504-507.
- CAPPONI (M.). — Applications de la technique d'immunofluorescence au diagnostic des rickettsioses. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1964, 42, 52-59.
- HEISCH (R. B.), GRAINGER (W. E.), HARWEY (A. E.), LISTER (G.). — Feral aspects of rickettsial infections in Kenya. *Transaction of the Roy. Soc. Trop. Med and Hyg.*, 1962, 56, 272-286.
- HOOGSTRAAL (H.), KAISER (M. N.), ORSMBEE (R. A.), OSBORN (D. J.), HELMY (I.), GABER (S.). — Hyalomma (Hyalomma) rhipicephaloides Neumann (Ixodoidea : Ixodidae): its identity, hosts and ecology, and *R. conori*, *R. prowazeki* and *C. burneti* infections in rodent hosts in Egypt. *J. Med. Ent.*, 1967, 4, 391-400.
- ORSMBEE (R. A.), HOOGSTRAAL (H.), LABIB BOTROUS (Y.), HILDEBRANDT (P.), WAGIH ATALLA. — Evidence for extrahuman epidemic typhus in the wild animals of Egypt. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol.*, 1968, 12, 226-231.

## Discussion.

P. GIROUD. — Depuis de très nombreuses années, nous nous étions rendu compte expérimentalement que le lapin répondait à des taux très importants sur les souches les plus diverses montrant les rapports des différentes rickettsies entre elles.

Par contre, le cobaye, le mérien, la souris, répondaient le plus souvent sur une souche et à des taux peu élevés. Si bien que le diagnostic du type de l'infection était mieux fait sur la souris que sur des animaux plus grands.

Ayant envoyé en 1950 à PÉLISSIER les résultats des lapins faits avec la souche de Brazzaville (canin Peslin), celui-ci avait conclu que cette souche était la souche de fièvre rouge congolaise et non une fièvre boutonneuse comme nous le pensions. Il ignorait que le lapin comme les animaux de grande taille avait des anticorps très étendus lors de leur infection et que le typage devait être réalisé sur de petits animaux, ce qu'ont depuis confirmé les essais d'immunofluorescence que j'avais demandés à CAPPONI.