

ZV0001029
1029

1029
6/2

COMPARAISON ENTRE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE
ET L'IMMUNOPEROXYDASE INDIRECTE DANS L'ETUDE
EPIZOOTIOLOGIQUE DES TRYPANOSOMIASES ANIMALES

Par S.M. TOURE *

RESUME

Malgré de nombreuses applications de l'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des maladies parasitaires, ce procédé de diagnostic n'est réalisable que dans les laboratoires disposant de microscope à éclairage ultraviolet. La méthode de diagnostic des Trypanosomiasés par immunopéroxydase indirecte sur antigènes figurés a l'avantage de pouvoir se faire avec un microscope à éclairage ordinaire. Les deux techniques ont été essayées dans l'étude de sérums de bovins Ndama suspects de Trypanosomiasé et de zébus indemnes.

Les Ndama suspects présentent souvent des réactions positives à des dilutions élevées (1/1280), aussi bien en immunofluorescence qu'en immunopéroxydase indirectes ; par contre, aucun zébu ne donne de réaction positive, avec les deux méthodes, entre les dilutions 1/320 et 1/1280.

Dans l'une ou l'autre méthode il y a des différences significatives entre zébus et Ndama.

L'immunopéroxydase indirecte se révèle légèrement supérieur à l'immunofluorescence.

Il semble alors tout indiqué de poursuivre des recherches sur les applications pratiques de l'immunopéroxydase indirecte dans les enquêtes sur les Trypanosomiasés animales.

COMPARAISON ENTRE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE
ET L'IMMUNOPEROXYDASE INDIRECTE DANS L'ETUDE
EPIZOOTIOLOGIQUE DES TRYPANOSOMIASES ANIMALES

Par Saydil M. TOURE *

(avec la collaboration technique de M. MBENGUE et T. DIEYE)

Malgré les très nombreuses applications de la méthode d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des maladies parasitaires et de la Trypanosomiase animale en particulier, ce procédé de diagnostic n'est pratiqué qu'assez rarement dans les laboratoires africains. Il a conduit à de bons résultats dans le diagnostic et l'étude épizootiologique de la Trypanosomiase bovine (TOURE et al, 1975). Son utilisation pratique sur le terrain dans le dépistage de la Trypanosomiase humaine a fait l'objet d'une note de G, DUVALLET et P. SALIOU (1978) (2). Les applications en épidémiologie citées dans la littérature scientifique sont presque toujours réalisées dans les laboratoires situés dans les capitales ou les très grandes villes. Les raisons de cette restriction tiennent en partie à la nécessité d'utiliser un microscope ultraviolet qui coûte sensiblement plus cher que les microscopes à éclairage ordinaire. Il est possible de pallier cet inconvénient en pratiquant la méthode immunoenzymologique, tout en utilisant des antigènes figurés. Cette méthode a été récemment expérimentée, pour ce qui est de la Trypanosomiase humaine, par CAILLIEZ et al (1977) (1). Selon ces auteurs, elle a une aussi bonne sensibilité que l'immunofluorescence, tout en ne nécessitant qu'un éclairage courant.

Nous avons voulu l'expérimenter dans le diagnostic des Trypanosomiasés bovines, en la comparant à l'immunofluorescence indirecte.

.../...

* Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires - I.S.R.A.
Service de Parasitologie - B.P. 2057 - DAKAR-HANN (Sénégal).

MATERIEL ET METHODES

L'antigène est constitué par un stock de Trypanosoma brucei brucei KARANG/67/LNERV/-, passé sur souris et récolté pur sur DEAE-cellulose selon la méthode de LANHAM (3). Après concentration, les Trypanosomes sont étalés sur lames et fixés à l'acétone, puis des cercles sont délimités sur les lames.

- 1 - L'immunofluorescence est pratiquée selon la méthode décrite antérieurement par TOURE (4). Le conjugué utilisé est un antiserum total d'immunoglobulines bovines préparé sur lapin et conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine (préparations faites au laboratoire).
- 2 - Pour l'immunopéroxydase indirecte la méthode suivie est celle décrite par CAILLIEZ (1), comportant notamment les étapes suivantes :
 - dilution des sérums en tampon de Coons (*),
 - réaction antigène-anticorps pendant 60 minutes à la température ambiante,
 - lavage 10 minutes par le tampon de Coons,
 - réaction avec un sérum de lapin anti-immunoglobulines bovines conjugué à la peroxydase (**) et dilué à 1/50, pendant 60 minutes,
 - lavage deux fois par le tampon de Coons = 1 minute et dix minutes,
 - révélation par le réactif de Graham-Karnowsky pendant 15 minutes (!**),
 - lavage à l'eau distillée,
 - montage en milieu glyciné et examen au microscope en lumière blanche.
- 3 - Les comparaisons portent sur des sérums de bovins Ndama provenant d'une région où sévissent les Trypanosomiasés animales et des sérums de zébus du nord du Sénégal, présumés indemnes de Trypanosomiasé.
- 4 - Les méthodes d'interprétation des résultats sont exposées ailleurs (4). Nous retenons toujours la moyenne géométrique des titres réciproques (MGTR) comme étant l'expression de l'abondance d'anticorps spécifiques.

(*) Tampon de Coons, pH 7,2 = Véronal sodique 20,6 g ; Sodium chlorure .. 85 g ; acide chlorhydrique 1 N : 80,6 mg ; eau bidistillée : qsp 5 l. Au moment de l'emploi ce tampon est dilué à parties égales avec l'eau distillée et on ajoute 0,3 p. 100 d'albumine bovine. (**) Miles Ltd. (***) Réactif de Graham-Karnowsky diamidino-3,3 - benzidine (tétrachlorhydrate) : 100 mg ; tampon Tris - Hcl à pH 7,6 : 200 ml ; eau oxygénée à 10 volumes : 2 ml.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'interprétation des réactions positives repose sur l'intensité de la coloration des Trypanosomes. Dans l'épreuve d'immunopéroxydase les sérums positifs entraînent une coloration brunâtre qui se maintient très nette même à des dilutions élevées. L'intensité des réactions dans l'immunofluorescence est souvent plus difficile à caractériser d'une dilution aux suivantes et la lecture est entachée de subjectivité.

En résumé, les résultats suivants ont été obtenus :

1 - Sérums des Ndama suspects

Titres réciproques	10	20	40	80	160	320	640	1280	Négatifs	TOTAL
IPI	1	1	2	1	1	2	1	8	7	24
IFI	2	1	4	0	1	1	0	6	4	19

MGR pour IPI = 57,68

MGR pour IFI = 54,96

2 - Sérums des zébus non suspects

Titres réciproques	10	20	40	80	160	320	640	1 280	Négatifs	TOTAL
IPI	3	4	3	4	1	0	0	0	5	20
IFI	4	3	0	1	1	0	0	0	11	20

MGR pour IPI = 13,84

MGR pour IFI = 3,98.

Ces résultats font apparaître

- a) que les Ndama suspects présentent souvent des réactions positives à des dilutions élevées (1/1280), aussi bien en immunofluorescence qu'en immunopéroxydase indirectes ; par contre, aucun zébu ne donne de réaction positive

.../...

avec les deux méthodes, entre les dilutions 1/320 et 1/1280 ;

- b) avec l'une ou l'autre méthode il y a des différences significatives entre les zébus et les Ndama ;
- c) l'immunopéroxydase indirecte se révèle légèrement supérieure à l'immunofluorescence.

Dans ces conditions, il nous semble tout indiqué de poursuivre des recherches sur les applications pratiques de la méthode d'immunopéroxydase indirecte dans les enquêtes sur les Trypanosomiasés animales.

.../...

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - CAILLIEZ (M.), POUPIN (F.) et al. - Valeur comparée de l'immunofluorescence et de l'immunoenzymologie sur antigène figuré dans le diagnostic immunologique des Trypanosomiasés africaines. Bulletin de la Société de pathologie exotique, 1977, 70 (4) : 391-398.
- 2 - DUVALLET (G.) et SALIOU (P.) - Utilisation sur le terrain de la technique d'immunofluorescence indirecte pour le dépistage de la Trypanosomiasé humaine. Médecine tropicale, 1978, 38 (1) : 69-73.
- 3 - LANHAM (S.M.) - The separation of trypanosomes from blood on anion-exchange columns - Trans. Royal Society trop. Med. Hyg., 1968, 62 (1) : 4-S.
- 4 - TOURE (S.M.), SEYDI (M.) et al. - Valeur de la méthode d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des Trypanosomiasés bovines et leur étude épizootiologique. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1975, 28 (4) : 463-472.