

ANALYSES

J.-A. RIOUX et Y.-J. GOLVAN et Coll. — **Epidémiologie des Leishmanioses dans le sud de la France.** Monographie de l'INSERM, N° 37, Paris, 1969, 223 p., 2 cartes.

La complexité des problèmes que pose à l'épidémiologiste l'étude des Leishmanioses dans leurs différents foyers n'a d'égale que l'ignorance quasi constante du médecin praticien devant ces parasitoses, et c'est précisément le grand mérite de J.-A. Rioux et Y.-J. Golvan et de leur équipe que d'avoir su, au prix de plusieurs années d'observations, dégager les données épidémiologiques relatives au foyer leishmanien du Midi de la France, et de les avoir exposées avec tant de clarté et de concision.

Bien entendu, cet important travail est d'emblée placé sous le signe de l'Ecologie et les auteurs étudient successivement, comme il devient classique de le faire au cours de toute étude épidémiologique, l'écologie de l'agent pathogène, celle du vecteur, celle du réservoir, en adoptant pour cela l'analyse en continu des comportements et des milieux techniques, de même la méthode des transects encore peu connue des épidémiologies ainsi que les cartes thématiques sont largement utilisées.

La première partie très développée de ce travail est consacrée aux vecteurs. C'est donc une revue complète des Phlébotomes français, comprenant successivement la morphologie, la description des méthodes de capture, les clés d'identification, enfin l'étude détaillée, systématique et écologique des six espèces (étude particulièrement complète en ce qui concerne *P. ariasi*).

Le second chapitre traite des hôtes vertébrés. A côté du classique réservoir domestique constitué par le Chien, les auteurs se sont efforcés de dépister les éventuels réservoirs sauvages en examinant 1.129 animaux capturés et en inoculant 567 animaux sauvages avec des *Leptomonas* de culture. C'est ainsi que furent mises en évidence la grande réceptivité du Loir, et surtout l'infestation naturelle du Renard, animal piqué volontiers par *P. ariasi*, le vecteur principal. Mais comme le soulignent d'ailleurs les auteurs, le fait que seules des formes amastigotes aient pu infecter expérimentalement deux Renards alors que sept autres individus, inoculés avec des formes promastigotes s'étaient révélés négatifs, jette évidemment un doute quant à la valeur des inoculations expérimentales des Rongeurs, faites elles aussi, avec des formes promastigotes.

Enfin en guise de conclusion, une synthèse épidémiologique, vient dans un troisième chapitre, reprendre les résultats obtenus jusque-là et les assembler de manière à dégager les principales données écologiques de ce foyer leishmanien. C'est ainsi que les auteurs font état de la précellence du vecteur qui joue le rôle d'« élément focalisateur », montrent

que le vecteur « habituel » est bien *P. ariasi*, et délimitent, avec une grande précision, le foyer cévenol, en faisant largement appel aux cartes de la végétation.

Une très abondante bibliographie (536 références), fait suite au texte de ce travail.

Il est certain que ce remarquable ouvrage achèvera d'attirer l'attention des médecins et des pouvoirs publics sur ce foyer et par là même sur une endémie dont la gravité ne peut échapper aux esprits désormais informés. Sans nul doute, il servira de modèle à l'étude épidémiologique d'autres foyers connus de Leishmaniose ou même d'autres endémies transmises par vecteurs.

F. RODHAIN.

P. AMBROISE-THOMAS. — Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence. *Thèse de Sciences.* Faculté de Médecine de Lyon, 1969, 844 p., 3 pl. couleur hors-texte.

Nous donnons avec quelque retard un compte rendu de cet important travail sur les résultats obtenus depuis 1962 par les techniques d'immunofluorescence dans le diagnostic de diverses parasitoses (toxoplasmose, Paludisme et Amibiase ; Bilharzioses et Fasciolases ; Hydatidoses ; Anguillulose et Filarioses), et de mycoses dues à des champignons du genre *Candida*.

On sait que parmi les méthodes sérologiques utilisées en Parasitologie, l'immunofluorescence possède l'avantage de prendre comme réactif le parasite lui-même, ce qui résout les problèmes délicats d'extraction, de purification et de standardisation des antigènes.

Toutefois, cette technique n'ayant été jusqu'alors qu'assez rarement employée en Parasitologie, une expérimentation préliminaire se révélait nécessaire pour l'adapter aux conditions particulières de chaque parasitose.

La première partie de ce travail est consacrée à la mise au point de ces techniques expérimentales. Le principe fondamental de la méthode est, rappelons-le, la mise en évidence de la réaction antigène-anticorps grâce au marquage de l'anticorps spécifique par une substance fluorescente (l'isothiocyanate de fluoresceine). En lumière ultra-violette, le complexe antigène-anticorps devient fluorescent.

On peut marquer le sérum à tester avant de le mettre en présence de l'antigène ; c'est la méthode directe, utilisée surtout pour la recherche d'un antigène donné au moyen d'immuns sérums spécifiques conjugués. Mais, plus communément, on met d'abord en contact l'antigène et le sérum à étudier et, dans un second temps, on met en évidence ses antigènes spécifiques, lorsqu'ils existent, par un conjugué fluorescent anti-Immunoglobulines. C'est la méthode indirecte qui permet l'utilisation d'un seul conjugué fluorescent pour tous les sérums provenant d'une même espèce animale et qui bénéficie en outre d'une plus grande sensibilité que la méthode directe.

Pour éviter les fluorescences non spécifiques, une contre-coloration au bleu d'Evans est effectuée pendant le temps d'action du conjugué ; elle accentue en outre le contraste entre les réactions positive et négative.

Les antigènes sont obtenus au moyen d'étalements sur lames de suspensions de parasites tels que *Plasmodium*, Amibes, Toxoplasmes ou *Candida*, ou par des coupes à congélation d'organes parasités (foie, rate, poumons, ganglions, etc.), utilisées en particulier pour

les Helminthes (*S. mansoni*, *F. hepatica*, *E. multilocularis*, etc.). Des procédés originaux ont été mis au point pour certains éléments parasitaires dont la situation ou la taille ne permettent pas de les sectionner sans un montage spécial dans un tissu servant de support rigide (inclusion dans un fragment d'intestin de souris ou dans un cylindre de muscle strié).

Les sérums ont été prélevés au cours d'infestations naturelles et expérimentales. Décantés et centrifugés, ils peuvent être conservés à -20° pendant de longues périodes (15 mois pour les mycoses et les helminthiases). Ils ne sont pas décomplémentés et ont été étudiés à divers taux de dilution, la dilution initiale correspondant à un seuil de spécificité éliminant tout risque de réactions croisées ; elle est déterminée expérimentalement pour chaque parasitose.

La lecture des résultats s'apprécie par référence à un certain nombre de lames témoins : témoin positif préparé à partir d'un sérum positif porté à sa première dilution significative ; témoin négatif obtenu avec un sérum normal à la même dilution ; témoin conjugué sur lequel on n'a fait réagir que le conjugué et le contre colorant, afin de vérifier si le conjugué ne produit pas de fluorescences propres.

Les résultats sont exprimés par le taux de la plus forte dilution des sérums pour laquelle on n'observe pas de fluorescence spécifique.

Statistiquement, le calcul de la moyenne géométrique des titres d'anticorps a permis de comparer entre elles des séries de résultats et de juger de la sensibilité de la réaction.

Ces recherches sur les conditions optimales d'application de la technique d'Immunofluorescence dans les parasitoses ont abouti à une simplification séduisante de la méthode, à un accroissement de sa reproductibilité tout en limitant les risques d'interprétation subjective.

L'analyse d'exemples précis de Protozooses, Helminthiases et Mycoses fait l'objet des 2^e, 3^e et 4^e chapitres de cet ouvrage. Nous la résumons brièvement :

Dans la toxoplasmose, l'immunofluorescence semble présenter un parallélisme remarquable avec le test de Lyse de Sabin et Feldman, tant en ce qui concerne la précocité de la réaction que pour sa valeur de contrôle de l'évolution des anticorps. De plus, l'antigène peut être conservé sous forme lyophilisée, ce qui se prête mieux aux grandes enquêtes épidémiologiques.

L'étude de diverses espèces de Plasmodies a fait apparaître chez les *Plasmodium* de Primates d'importantes communautés antigéniques. Les formes exo-érythrocytaires sont, d'après l'auteur, dénuées de toute activité immunogène, laquelle paraît réservée aux stades endoglobulaires. Dans le paludisme humain, l'intérêt de l'immunofluorescence réside peut-être davantage dans la révélation de la présence d'anticorps chez des sujets réfractaires à l'infestation paludéenne, ou dans l'observation d'une prémunition progressivement acquise en zone endémique que dans sa valeur diagnostique.

L'immunofluorescence a une valeur sélective dans l'amibiase, car elle ne se positive que lorsqu'il existe des formes *histolytica* pathogènes. Elle ne peut donc, semble-t-il, permettre la détection de porteurs sains de formes *minuta* dans des enquêtes épidémiologiques ; mais elle présente un intérêt évident dans les amibiases hépatiques où l'auteur a obtenu des réactions positives dans tous les cas par lui observés, avec des titres élevés d'anticorps fluorescents.

Dans les helminthiases, l'auteur a recueilli des résultats particulièrement fidèles : 96 % dans les bilharzioses à *mansoni* ; 95 % dans les bilharzioses à *haematobium* ; 98 % dans les fasciolases où les réactions croisées ne concernent que des douves appartenant au même genre (*F. gigantica*, *F. hepatica*).

Dans les cestodoses, la réaction s'est positivée dans 97 % des cas pour des kystes hydatiques hépatiques ou péritonéaux, et de façon plus inconstante pour les kystes pulmonaires ou osseux. Elle présente également une valeur diagnostique élevée dans l'échinococcose alvéolaire. Mais la spécificité est ici moins étroite et des réactions croisées s'observent avec des antigènes larvaires voisins (*Cysticercus cellulosae*) quoique peut-être à des titres moins élevés qu'avec l'antigène homologue.

L'expérimentation sur les Nématodoses apporte des résultats plus ou moins fidèles : elle montre que l'apparition des anticorps est bien liée à l'existence des auto-infestations et des migrations larvaires au cours de la strongyloïdose. Dans les filarioses, il existe, pour l'ensemble des filaires, de nombreuses fractions antigéniques communes. Les réactions croisées avec des immuns sérums correspondant à d'autres vers ronds et même à des Plathelminthes sont fréquentes, et la première dilution significative doit être de 1/20.

Ce test immunologique a une valeur indicative certaine lorsque le diagnostic parasitologique est en défaut. L'auteur préconise l'emploi comme antigène de coupes de filaires adultes de *Dirofilaria viteae*, parasites de Rongeurs qui se localisent dans les aponévroses et constituent un bon réactif de groupe. Face à cet antigène figuré, les immuns sérums antifilariens étudiés ont donné lieu à des réactions positives dans 92 % des cas.

Quant aux candidoses, elles ont rarement permis de retrouver des anticorps fluorescents spécifiques dans les formes superficielles, cutanéomuqueuses. Dans les formes viscérales profondes ou septicémiques, en revanche, les réactions sont hautement positives et fidèles. L'immunofluorescence constitue donc un mode de diagnostic précieux dans ces infestations souvent difficiles à identifier, ainsi que dans les manifestations bronchiques ou pulmonaires où la présence de levures dans les prélèvements ne permet pas de reconnaître *a priori* leur caractère pathogène ou saprophytique.

En conclusion, il semble donc bien que les recherches poursuivies par J. AMBROISE-THOMAS, à l'Ecole de Lyon, soient appelées à trouver un large écho en immunologie parasitaire, et qu'elles acquerront dans l'avenir un spectre étendu d'utilisation.

Outre la simplicité de la méthode, sa précocité et sa sensibilité diagnostiques, son application dans le contrôle de l'évolution sérologique post-thérapeutique permettra de juger des effets spécifiques des traitements institués, parfois même de révéler une parasitose occulte.

Sur le plan immunitaire, il n'apparaît pas de corrélation significative entre les anticorps circulants et les phénomènes d'immunité. Cependant l'auteur constate parfois que les titres élevés de ces anticorps (après traitement dans les bilharzioses, par exemple) coïncident avec un effet protecteur ; il suggère que, peut-être, cette notion purement quantitative pourrait, dans certains cas, séparer les anticorps « témoins » des anticorps « protecteurs ».

Une très importante bibliographie (967 références) complète ce travail. Trois planches en couleur en illustrent comparativement les réactions positives et négatives.

Un résumé anglais mentionne les progrès réalisés dans les techniques d'immunofluorescence et commente les conclusions générales tirées des 14.000 observations humaines et expérimentales faisant l'objet du présent travail.

A. BUTTNER.