ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome XLV

1970

N° 4

Annales de Parasitologie (Paris), t. 45, 1970, n° 4, pp. 389 à 403

MÉMOIRES ORIGINAUX

Intérêt expérimental d'une souche de *Toxoplasme* peu pathogène pour la Souris

par M. LAUGIER * et M. QUILICI

*Laboratoire de la Toxoplasmosse, Institut de Pédiatrie (P^r R. BERNARD),
21, rue Virgile-Marron, F 13 - Marseille*

*Laboratoire de Parasitologie, Faculté Mixte de Médecine et Pharmacie (P^r J. RANQUE),
boulevard Jean-Moulin, F 13 - Marseille (5°)*

Résumé

Une souche sauvage de toxoplasmes, isolée à partir d'un cobaye (souche 76) est entretenue par passages de cerveaux depuis sept ans.

Contrairement à la souche RH de Sabin, cette souche ne tue pas l'animal et permet d'obtenir une grande quantité d'antigène sous forme kystique.

Inoculée à la souris ou au cobaye, elle produit régulièrement une toxoplasmosse latente. Cette latence de la maladie se retrouve également dans la descendance de femelles inoculées en cours de gestation.

En pathologie humaine, ces formes chroniques sont vraisemblablement très répandues, mais souvent méconnues, et il est apparu intéressant de rechercher chez la souris inoculée avec la souche 76, les signes biologiques révélateurs de l'infestation.

* Attaché de recherches à l'I.N.S.E.R.M.

Ce travail rapporte l'étude des variations du taux des anticorps, des modifications du protidogramme et de la formule et numération sanguine, de la constitution des kystes, en fonction de la durée de la maladie.

A la lumière des résultats obtenus, les auteurs émettent diverses hypothèses à la fois d'ordre épidémiologique et thérapeutique.

Summary

A savage strain of *Toxoplasma*, isolated from a guinea-pig is keeping up brain crossing since seven years.

Contrarily to the Sabin's RH strain, this strain don't kill the animal and allow to get a large quantity of antigen under cystic form.

Inoculated into a mouse or a guinea-pig, this strain regularly bring forward a latent toxoplasmosis. This latency of disease is also founded in the lineage of females inoculated during pregnancy.

In human pathology these chronic forms are probably very wide-spread, but often unrecognized and it seems very interesting to search for biological signs revealing infestation into the mouse inoculated with the strain 76.

This work give the study of variations of anti-bodies rate, the modifications of protides, hemogram, and cyst's constituting with the lasting of disease.

With the obtaining of results, the authors raise some hypothesis relating to epidemiology and therapeutic at the same time.

En 1939, Sabin et Feldmann isolaient chez l'enfant R.H..., mort d'encéphalite toxoplasmique, une souche de toxoplasme très caractéristique par sa virulence et son pouvoir pathogène pour la souris.

La souche RH entraîne la mort de la souris en quatre à dix jours quels que soient le mode et la voie d'inoculation. Cette souche est entretenue depuis par passages sur souris dans les laboratoires spécialisés du monde entier. Les passages successifs chez de nombreuses espèces, l'ensemencement sur culture de tissus n'ont pas altéré ses caractères. L'abondance du matériel antigénique mis à la disposition des chercheurs a permis de mettre au point des réactions sérologiques pour le diagnostic de la maladie: dye-test de Sabin et Feldmann, déviation du complément, hémagglutination passive, test de lyse, immunofluorescence. La souche RH est à la base de toutes les études biologiques sur le toxoplasme et des recherches thérapeutiques.

Existe-t-il d'autres souches du type RH ?

Est-il possible d'isoler chez l'homme ou chez l'animal des souches de ce type ?

En dix ans de recherches, nous avons isolé vingt souches à partir de prélèvements divers (placentas, ganglions, cerveau, foie, L.C.R., muscle) provenant de sujets atteints de toxoplasmose aiguë, acquise ou congénitale.

Ces souches ont été isolées après passages à la souris. Les animaux inoculés présentent deux types de réactions : soit une infection rapidement mortelle et il est facile de mettre en évidence le toxoplasme dans le péritoine de ces animaux, soit une forme chronique asymptomatique décelée par la présence de formes enkystées dans le cerveau.

L'infection chez la souris est sans rapport avec la maladie humaine. Des souches isolées dans des cas mortels d'encéphalite néo-natale se sont comportées comme des souches peu pathogènes, d'autres au contraire, isolées dans des cas de toxoplasmose ganglionnaire bénigne ont entraîné la mort des animaux inoculés.

Il paraît donc difficile de définir actuellement une souche de toxoplasme si ce n'est par rapport aux caractères de la souche RH, donc en fonction de son pouvoir pathogène pour la souris.

Une souche de toxoplasme est du type RH lorsqu'elle entraîne régulièrement la mort de la souris en quatre à dix jours. Nous disons de « type RH » car, jusqu'à présent, aucune des souches virulentes que nous avons isolées n'a pu être entretenu régulièrement par passages pendant des années.

Si l'on se réfère à ce critère, les souches du type RH semblent très peu répandues dans la nature. La majorité des souches que nous avons manipulées n'étaient pas pathogènes pour la souris. Parmi celles-ci, nous avons sélectionné une souche dite « souche n° 76 », dont les caractères se sont maintenus constants depuis sept ans d'expériences, malgré des centaines de passages chez la souris et le cobaye. Cette souche nous a paru intéressante à étudier par opposition à la souche RH. Elle présente certains avantages expérimentaux.

1) Alors qu'avec la souche RH, l'antigène n'est étudié que sous sa forme végétative, avec la souche 76, il est possible de manipuler la forme enkystée du parasite.

2) Au point de vue pathologique, la maladie obtenue avec la souche 76 chez la souris, semble assez superposable aux formes de la maladie humaine acquise ou congénitale, telles qu'on les rencontre actuellement. En effet, les formes mortelles de toxoplasmose acquise de l'enfant et de l'adulte décrites par Pinkerton (10) ne sont plus observées. Cette parasitose semble avoir bénéficié de la très large utilisation des antibiotiques, bien que la majorité de ceux-ci soient réputés inactifs contre le toxoplasme (c'est une explication possible).

La toxoplasmose congénitale manifeste est également devenue exceptionnelle, seules les formes chroniques inapparentes restent très fréquentes ; 30 à 70 cas pour 10.000 naissances (Colloque de Lyon sur la prévention de la toxoplasmose chez la femme enceinte, 1969).

3) Le comportement antigénique des toxoplasmes de cette souche 76 semble pratiquement superposable à celui des toxoplasmes de la souche RH, ce qui, du fait de la non-pathogénicité de cette souche 76, est particulièrement précieux pour étudier la cinétique des anticorps.

A. La souche 76.

a) Son origine.

Cette souche a été isolée à partir du cerveau d'un cobaye (n° 76) mort rapidement lors de son arrivée au laboratoire.

Les souris inoculées avec le broyat de cerveau ont présenté au 10^e jour une ascite avec des toxoplasmes ; malgré cette réaction péritonéale, elles ont survécu ; certains de ces animaux ont été sacrifiés deux mois après et ils présentaient une infestation massive du cerveau par de très gros kystes de toxoplasmes (100 à 300 μ et plus). Par écrasement entre lame et lamelle, il était facile de vérifier que le contenu de ces sphères était bien constitué par des toxoplasmes (photo n° 1).

b) Entretien de la souche.

Après plusieurs essais d'inoculation, nous avons mis au point une technique permettant de conserver la souche. Les modalités sont les suivantes :

Un cerveau de souris infectée est broyé très finement à sec dans un mortier ; il est mis en suspension dans 3 cm³ de sérum physiologique ; une goutte de cette suspension est examinée entre lame et lamelle au grossissement 10 avec un éclairage de faible intensité ; l'étalement doit être très fin ; les kystes apparaissent sur fond clair comme des sphères denses de tailles très variables (50 à 300 μ) (photo n° 2).

Pour l'inoculation à la souris, le broyat est dilué dans du sérum physiologique jusqu'au volume terminal de 20 cm³ pour un cerveau ; on injecte 1/2 cm³ à chaque animal. Le passage n'a jamais donné d'échecs ; les souris sont infestées dans 100 % des cas.

B. Caractères de l'infection chez la souris inoculée avec la souche 76.

Les animaux présentent toujours au 10^e jour une ascite facile à ponctionner, mais assez pauvre en toxoplasmes. Ils résistent à cette première atteinte et survivent en parfait état. Ce parasitisme n'altère pas leur croissance ni leurs possibilités de reproduction. Nous avons gardé des souris infectées pendant dix-neuf mois.

Pour essayer de caractériser la maladie chez ces souris, nous avons étudié au cours de travaux successifs les éléments suivants :

- 1) l'évolution des réactions sérologiques et ses rapports avec l'intensité du parasitisme au niveau du cerveau ;
- 2) les variations de la formule sanguine et du protidogramme ;
- 3) la dissémination du parasite.

I. — Kyste éclaté (contraste de phase, grossissement 40×10)

II. — Deux kystes dans un broyat de cerveau (grossissement 10×10)

I. — Evolution sérologique en fonction de la durée de la maladie et essai de corrélation avec l'importance du parasitisme cérébral.

TECHNIQUES UTILISÉES.

* Pour le diagnostic sérologique : test de lyse des toxoplasmes.

* Pour le diagnostic parasitologique :

— examen direct : au contraste de phase pour la recherche des formes végétatives ou examen direct au faible grossissement pour la recherche des kystes dans un broyat de cerveau ;

— recherche indirecte : la preuve parasitologique est toujours confirmée par passages à d'autres souris.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Nous avons contaminé un grand nombre d'animaux, plus de 600 souris de même souche, de même sexe, avec la technique décrite ci-dessus, et nous avons sacrifié des lots d'au moins 20 souris ; d'abord tous les cinq jours pendant un mois, puis tous les mois. Nous avons sacrifié les animaux afin de pouvoir pratiquer pour chacun :

- une formule et numération sanguine,
- un test de lyse (l'antigène est celui de la souche RH),
- une électrophorèse des protéines,
- un examen direct du cerveau,
- un passage.

RÉSULTATS.

— *Animaux inoculés depuis cinq jours* : test de lyse négatif. Le cerveau n'est pas infecté.

— *Animaux inoculés depuis dix jours* : test de lyse négatif dans seize cas ; dans quatre cas, il est positif en sérum pur ; cerveau : examen direct négatif, pas de kystes, mais isolement du toxoplasme après inoculation ; rares formes végétatives dans le péritoine ; le sang est infectant.

— *Animaux inoculés depuis quinze jours* : le test de lyse est positif au 1/100 dans seize cas et au 1/10 dans quatre cas ; tous les animaux ont des anticorps circulants ; le cerveau est infectant, mais les kystes ne sont pas toujours visibles.

— *Animaux inoculés depuis vingt jours* : tous les animaux ont un test de lyse positif : 50 % ont un taux d'anticorps supérieur au 1/100. L'examen des cerveaux permet de voir des kystes de toxoplasmes relativement petits, 20 à 50 μ , assez comparables à ceux qui sont obtenus avec la souche RH.

— *Animaux inoculés depuis un mois* : le taux des anticorps est très significatif ; 66 % des souris possèdent des anticorps à un titre supérieur au 1/500 (1/1.000 à 1/8.000) ; 12 % des titres sont compris entre le 1/2.000 et le 1/8.000 l'examen du broyat de cerveau montre de très nombreux kystes ; la densité des parasites dans ces kystes est plus grande.

— *Inoculation de deux mois* : 25 % des animaux ont des taux d'anticorps très élevés, compris entre le 1/2.000 et le 1/8.000.

C'est à ce stade également que nous avons observé le plus grand nombre de kystes (30 à 40 kystes dans une goutte de broyat) ; les kystes sont énormes ; la densité en parasites est très grande (photo n° 3).

Parallèlement à l'augmentation des anticorps circulants, il semble qu'il se produise une augmentation du nombre des kystes intra-cérébraux et une prolifération des toxoplasmes à l'intérieur de ces kystes.

— *Dans les mois qui suivent et jusqu'au 12^e mois de la maladie* : très rapidement après le 5^e mois et le 6^e mois de la maladie, la majorité des animaux ont un taux d'anticorps inférieur au 1/2.000 ; les réactions sont très étalées et au 8^e mois, on relève 66 % de taux inférieurs au 1/100 et 44 % de taux compris entre le 1/500 et le 1/2.000. Tous les animaux conservent des anticorps ; tous possèdent des kystes dans le cerveau avec peut-être une moins grande richesse chez ceux qui sont inoculés depuis plus de dix mois (tableau n° 1).

Tableau n° 1. — RÉSULTATS DU TEST DE LYSÉ DANS UNE POPULATION DE SOURIS

DURÉE DE LA MALADIE	NOMBRE DE SOURIS	TITRE DU TEST DE LYSÉ							
		Néga-tif	+ pur	1/10 ^e	1/100 ^e	1/1.000 ^e	1/2.000 ^e	1/4.000 ^e	1/8.000 ^e
0 jour	20	20							
5 »	20	20							
10 »	20	16	4						
15 et 20 j. . .	40			8	22	8	2		
30 j.	52			2	6	16	21	6	1
2- 3 mois . .	68			6	18	20	14	7	3
4- 5 » . . .	75			11	16	25	15	6	2
6- 7 » . . .	40				9	20	6	4	1
8- 9 » . . .	47			10	14	18	3	2	
10-11 » . .	40			3	15	22			
12-14 » . .	20			2	6	14			

CONCLUSION.

1) Le cerveau des souris est infecté dès le 10^e jour, mais les kystes ne sont visibles au microscope qu'à partir du moment où les anticorps sériques sont décelables par le test de lyse à un taux du 1/10.

2) Quel que soit le taux des anticorps, le cerveau d'un animal est infectant à 100 %.

3) Il semble cependant que la plus ou moins grande richesse en kystes soit liée à la positivité plus ou moins grande du test de lyse.

III. — Formes végétatives faisant issue d'un kyste éclaté (souche 76)

IV. — Formes végétatives (souche RH)

4) Si l'on considère l'ensemble des réactions sérologiques dans cette population de souris observées pendant douze mois, nous sommes frappés par l'absence d'unité dans ces réponses, en fonction du temps. Apparemment, il ne semble pas qu'un taux bas puisse permettre de préjuger de la date de début de la maladie.

5) C'est entre le 1^{er} et le 6^e mois qu'on observe le plus grand nombre de taux élevés, de l'ordre du 1/6.000 (fig. 5).

FIG. 5. — Courbe exprimant en pourcentages, la répartition des titres d'anticorps supérieurs au 1/1.000^e, dans une population de souris inoculées avec la souche 76

APPLICATION DE CETTE ÉTUDE AU DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE.

L'étude précédente nous a permis de vérifier la relation existant entre le moment où les anticorps sont dosables et la formation des kystes dans le cerveau. Nous en avons déduit une technique appliquée au diagnostic parasitologique de la toxoplasmose humaine et animale.

Les animaux infectés par un matériel peu virulent (L.C.R. suc ganglionnaire, biopsie musculaire, etc.) ont une réaction péritonéale fugace et classiquement il faut faire plusieurs passages de cerveau pour obtenir une ascite riche en formes végétatives. Ces passages en série demandent plusieurs mois de manipulation.

Depuis plusieurs années, nous avons adopté une autre technique : les souris saines inoculées à partir d'un prélèvement suspect sont sacrifiées au 20^e jour ; le sang de chaque animal est prélevé ; on pratique un test de lyse sur sérum pur. Le cerveau des animaux dont la sérologie est positive est broyé, et les kystes sont recherchés au faible grossissement. Cette méthode permet un diagnostic rapide. Nous n'avons jamais observé de discordance : les animaux qui ont un test positif en sérum pur, sont toujours porteurs de kystes dans le cerveau.

II. — Etude de la formule et numération globulaire et des protéines sériques au cours de la toxoplasmose de la souris.

Des lots de souris inoculées à des dates différentes avec la souche 76, sont sacrifiées. A partir de chaque prélèvement, on pratique une formule et numération globulaire, un test de lyse, une électrophorèse des protéines sériques.

Ces mêmes examens sont pratiqués sur des animaux témoins.

A) VARIATIONS DE LA FORMULE SANGUINE.

Au point de vue morphologique, il faut souligner la forme assez particulière des noyaux de polynucléaires. Les noyaux ont une forme en couronne ou en 8, plus ou moins morcelé. Les granulations ne sont pas nettes.

Comme la plupart des auteurs qui se sont intéressés à l'étude du sang chez la souris nous avons été amenés à réunir en un seul groupe les cellules mononuclées. Les résultats moyens sont exprimés en pourcentage et en valeur absolue (tableau n° 2).

Tableau n° 2. — VARIATIONS DE LA FORMULE ET NUMÉRATION GLOBULAIRE EN FONCTION DE L'ÉVOLUTION DE LA TOXOPLASMOSE

DURÉE DE LA MALADIE	GLOBULES R 10 ⁶ /mm ³	GLOBULES B total/mm ³	POLYN. NEUTROPH. total - %	EOSINOPH. total - %	LYMPHOCYTES total - %
10 jours	9,8	8.210	3.584 - 44	372 - 4	4.254 - 52
20 jours	11,9	12.700	4.064 - 32	508 - 4	8.186 - 64
40 jours	9,0	7.727	1.390 - 18	651 - 8	5.716 - 74
7 mois	10,9	10.500	3.360 - 32	420 - 4	6.720 - 64
Souris saines .	10,5	8.381	1.424 - 17	251 - 3	7.000 - 80

Discussion : Il n'existe pas d'anémie : la leucocytose n'est pas constante, mais dans un cas sur cinq, elle atteint des chiffres très élevés au-dessus de 20.000 globules blancs. Cette leucocytose s'accompagne d'une polynucléose élevée dans la phase aiguë de l'infection ; pendant toute l'évolution, la polynucléose persiste mais à des taux modérés.

B) ELECTROPHORÈSE DES PROTÉINES SÉRIQUES ET RÉACTIONS SÉROLOGIQUES.

Au cours de l'évolution de la maladie chez la souris, nous notons deux phénomènes évidents :

— élévation du taux des γ -globulines particulièrement nette dès le 20^e jour de la maladie, et diminution importante de la quantité d'albumine ;

— augmentation du taux des β -globulines dans la phase d'invasion (tableau n° 3). Les γ -globulines augmentent à partir du moment où les réactions sérologiques

deviennent positives ; ensuite il faut noter que leur taux n'est pas en rapport avec le taux de positivité du sérum.

Discussion : Au 10^e jour de la maladie, nous observons une polynucléose élevée et une augmentation des β -globulines ; les tests sérologiques sont négatifs.

Au 20^e jour, le taux de l'albumine a baissé ; il apparaît un pic au niveau des γ -globulines ; il existe une leucocytose avec polynucléose modérée. Les tests sérologiques sont positifs.

Au 40^e jour, ce groupe présente des caractères biologiques peu différents du groupe témoin. Cependant, on retrouve l'augmentation des γ -globulines et on relève une éosinophilie moyenne.

Au 7^e mois, le taux d'albumine est très bas ; le taux des γ -globulines est constant ; on retrouve une polynucléose modérée.

**Tableau n° 3. — VARIATIONS DES PROTÉINES SÉRIQUES
AU COURS DE LA TOXOPLASMOSE CHRONIQUE**

DURÉE DE LA MALADIE	% DE PROTÉINES SÉRIQUES				TEST DE LYSÉ
	Albumine	α	β	γ	
0	46	26	21	3	Négatif
10 j.	38	26	31	2	Négatif
20 j.	33	26	23	15	< 1/1.000 ^e
40 j.	46	15	17	20	≥ 1/1.000 ^e
7 mois	30	21	25	20	> 1/1.000 ^e

CONCLUSION.

L'évolution de la toxoplasmose chez la souris inoculée avec la souche 76 entraîne des modifications de la formule leucocytaire et de la composition du protidogramme.

Dans la phase aiguë d'inoculation, il existe une réaction leucocytaire à prédominance de polynucléaires. Cette polynucléose qui, chez la souris inoculée avec la souche RH, peut atteindre 90 % du nombre des leucocytes (travaux à paraître), correspond à la phase où le parasite n'est pas enkysté.

La polynucléose persiste de façon modérée au cours de l'évolution, ce qui laisse supposer que des formes végétatives évoluent encore indépendamment des kystes. Il a été prouvé que des animaux contaminés depuis plusieurs mois (7 mois dans les observations de Remington) ont un sang encore infectant. D'autre part, il faut souligner que la réinfestation de ces animaux à partir de formes végétatives provoque l'augmentation de la polynucléose.

Les γ -globulines apparaissent au 20^e jour, moment où les kystes se forment et où les réactions sérologiques deviennent positives.

Il apparaît à la suite de ces corrélations que l'association : leucocytose avec polynucléose, augmentation du taux des γ -globulines, diminution du taux de l'albumine, correspond à une infestation toxoplasmique où le parasite évolue à la fois sous forme intra-cellulaire végétative et sous forme enkystée intracérébrale sans qu'il y ait de relation évidente avec le taux des anticorps circulants.

III. — Localisation du parasite dans les tissus.

a) ISOLEMENT DU TOXOPLASME.

Nous avons fait des passages de cerveau, muscle, foie, rate, sang, de petits lots de cinq souris inoculées depuis dix jours jusqu'à deux mois d'évolution (10 j., 20 j., 40 j., 2 mois). Tous les passages ont été infectants pour d'autres animaux. Si l'examen du cerveau permet de voir des kystes à l'état frais, par contre, l'examen direct répété de broyats de muscles ou de rates ne nous ont jamais permis de retrouver des parasites bien que ces fragments aient été infectants.

b) ETUDE HISTO-PARASITOLOGIQUE.

La recherche du toxoplasme a été faite sur des coupes de tissus, colorées à l'hématéine-éosine. Les pièces sont fixées au formol salé (deux tiers de formol du codex pour un tiers de sérum physiologique). Ce mode de fixation permet de conserver la structure très fine des formes végétatives.

Si nous comparons les résultats de l'inoculation et ceux de l'examen histologique, nous constatons : alors que tous les tissus sont parasités, c'est seulement au niveau du cerveau que l'examen anatomo-pathologique permet de retrouver les kystes.

Il existe donc chez des animaux dont le taux des anticorps est parfois positif au 1/6.000 en test de lyse, à côté des formes enkystées, des formes végétatives ou autres ?... qui sont dans les cellules. Nous pouvons penser que ces toxoplasmes sont véhiculés par le sang.

Cette hypothèse séduisante ouvre des horizons au point de vue épidémiologique, elle permet d'évoquer la contamination des herbivores par un insecte hématophage.

C. Confrontation des caractères de la souche 76 et de la souche RH.

a) Au point de vue morphologique.

Les formes végétatives issues des kystes paraissent différentes au point de vue morphologique des formes végétatives de la souche RH. Les parasites ont une forme plus allongée, en banane (photos n^{os} 3 et 4). Cette différence est plus sensible après coloration au May-Grunwald Giemsa. Le noyau n'est pas central comme dans la souche RH, il est rejeté à une extrémité.

b) Etude antigénique.

Cette étude est encore incomplète, mais elle nous paraît intéressante.

— *In vitro* : le pouvoir immunogène des deux souches est le même ; les anticorps 76 réagissent avec l'antigène RH en donnant des résultats superposables en test de lyse, déviation du complément et immuno-fluorescence.

— *In vivo* : la réaction d'immunité croisée entre la souche 76 et la souche RH est inconstante.

Les animaux inoculés depuis plusieurs mois avec la souche 76, bien que porteurs d'anticorps à un taux très élevé, ne résistent que dans la proportion de 1 sur 10 à une réinfestation par la souche RH (10.000 toxoplasmes). Les animaux meurent au 10^e jour et le parasite est retrouvé sous formes végétatives dans tous les organes. Seuls les animaux qui ont résisté à cette réinfestation supportent une troisième infestation massive par la souche RH.

Les premiers résultats de ce travail semblent montrer qu'il existe des antigènes toxoplasmiques différents d'une souche à l'autre. La présence d'une toxine sécrétée par la souche RH pourrait expliquer cette paralysie des défenses immunitaires au cours de la réinfestation.

D. Intérêt expérimental de la souche 76.

1) Etude des voies de contamination.

Le broyat d'un cerveau de souris 76 (technique décrite) est infectant à 100 % par de nombreuses voies. Nous avons expérimenté avec des résultats positifs constants :

- la voie digestive par sonde œsophagienne,
- la voie intramusculaire,
- la voie intrapéritonéale,
- la voie vaginale par instillation.

Ces voies sont utilisables chez le cobaye et la souris ; quelle que soit la voie d'inoculation choisie, le processus biologique qui suit est toujours le même :

- apparition des formes végétatives au 10^e jour, au point d'inoculation : dans le péritoine, dans les ganglions mésentériques, dans les sécrétions vaginales ;
- formation des kystes intracérébraux et disparition des formes végétatives au 20^e jour.

2) Transmission de la toxoplasmose congénitale chez le cobaye et la souris.

Les recherches que nous avons réalisées chez le cobaye inoculé en cours de gestation, nous ont permis de montrer grâce à cette souche la latence possible de la toxoplasmose congénitale (P. Giraud et M. Laugier, 1965, 1967).

Tous les travaux réalisés avec la souche RH chez la souris, le cobaye, le chien, inoculés en cours de gestation montraient la fréquence des avortements et la mortalité.

Des cobayes inoculés en cours de gestation avec la souche 76, contaminent 70 % de leurs descendants et dans 50 % des cas, la maladie est latente, seule la sérologie est positive.

Actuellement, ce sont ces formes qui sont le plus fréquemment rencontrées chez l'enfant (30 à 70 pour 10.000). Ces résultats sont également observés chez la souris infestée par voie digestive.

L'inoculation de la souris le 1^{er} jour de la gestation entraîne la contamination de toute la portée, et 100 % des animaux ont une maladie inapparente.

E. Conclusions.

L'utilisation de la souche de toxoplasme n° 76 nous permet de tirer quelques conclusions pathogéniques mais soulève un grand nombre d'hypothèses de travail.

a) Dans le cerveau, le kyste se constitue en 18-20 jours au moment où les anticorps lytiques sont dosables dans le sang.

b) Les kystes augmentent en volume et en nombre en fonction de l'élévation du taux des anticorps, puis leur nombre décroît et le cerveau reste infectant malgré la chute à un titre très bas (1/10).

c) L'infestation à partir d'un kyste peut se faire par toutes les voies. Il ne semble pas que la digestion pepsique de la paroi par les sucs digestifs soit le seul mécanisme de rupture. Il est possible que des agressions non spécifiques dues au lysozyme ou à une différence de pH suffisent à faire éclater le kyste.

d) A côté du kyste, des formes de toxoplasmes, probablement intracellulaires, sont véhiculées par le sang malgré la présence d'anticorps circulants. Ces anticorps ne protègent pas toujours d'une surinfection par une souche virulente.

On peut admettre que ces formes non enkystées observées chez des animaux atteints de toxoplasmose latente puissent être à l'origine de la contamination des herbivores par un vecteur hématophage.

e) En pathologie humaine et particulièrement à propos de la toxoplasmose congénitale, si l'on envisage l'existence de souches du type 76, la protection du fœtus par les anticorps maternels paraît beaucoup plus aléatoire.

Sans tenir compte de la date de début de la maladie (si celle-ci est connue), la persistance, en cours de grossesse, d'une sérologie très positive est une indication à instituer un traitement chez la mère.

Bibliographie

1. BLANC (G.), BRUNEAU (J.) et CHABAUD (A.), 1950. — Quelques essais de transmission de la toxoplasmose par des arthropodes piqueurs. *Ann. Inst. Pasteur*, 78, 2, 267-280.
  2. COUVREUR (J.), DESMONTS (G.), GERBEAUNE (J.) et LELONG (M.), 1961. — Les modes de propagation de la toxoplasmose humaine. *Arch. Franç. Pédiat.*, 18, 1026-1032.
  3. DESMONTS (G.), LE VAN VINH et COUSIN (L.), 1957. — L'isolement du toxoplasme par inoculation à l'animal. *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 2, 555-565.
  4. FAURE (P.), 1953. — La toxoplasmose humaine. Epidémiologie. *Thèse Méd. Lyon*.
  5. FRANÇOIS (J.), 1963. — *La toxoplasmose et ses manifestations oculaires*, Masson et C^{ie}, édit., bibliogr.
  6. GARIN (J.-P.), 1953. — Etude du toxoplasme et de la toxoplasmose humaine, *Thèse Lyon*.
  7. GIRAUD (H.) et M^{me} LAUGIER (M.), 1961. — Premiers résultats d'une étude sur la parasitémie dans la toxoplasmose expérimentale. *Arch. Franç. Pédiat.*, 18 : 10, 1261-1268.
  8. GIRAUD (P.), PAYAN (H.), TOGA (M.), BÉRARD (M.), DUBOIS (D.) et LAUGIER (M.), 1965. — Toxoplasmose congénitale aiguë expérimentale du cobaye. Corrélations cliniques, biologiques et anatomiques. *Ann. Anat. Path.*, 10, n° 4, 337-350.
  9. LAUGIER (M.), BÉRARD-BADIER (M.), COIGNET (J.) et GIRAUD (P.), 1967. — Toxoplasmose et grossesse. Réflexions à propos d'une étude sur la toxoplasmose congénitale expérimentale du cobaye. *Gynéc. et Obstét.*, 66, n° 2, 201-210.
  10. PINKERTON et WEINMAN, 1940. — Toxoplasma infection in man. *Arch. Path.* 30 : 1, 374.
  11. PINKERTON et HENDERSON, 1941. — Adult toxoplasmosis. A previously unrecognised disease entity simulating typhusspotted fever group. *J.A.M.A.*, 116 : 807.
  12. REMINGTON (J. S.), MELTON (M. L.), et JACOBS (L.), 1961. — Induced and spontaneous recurrent parasitemia in chronic infections with avirulent strains of toxoplasma Gondii. *J. Immunology*, 87, 578-581.
  13. REMINGTON (J. S.) et HACKMANN (R.), 1965. — Changes in mouse serum proteins during acute and chronic infection with an intracellular parasite (Toxoplasma Gondii). *The journal of immunology*, 95/6, p. 1023-1034.
  14. REMINGTON (J. S.), MELTON (M. L.) et JACOB (L.), 1961. — Congenital transmission of toxoplasmosis from mother animals with acute and chronic infections. *J. Infect. Dis.*, 108, 163-173.
  15. REY (Ch.), 1967. — Pathologie de la toxoplasmose. *Thèse, Marseille* (imprimée).
  16. SABIN (A. B.), 1941. — Toxoplasmic encephalitis in children. *J.A.M.A.*, 116, 801-807.
-