

# Réactions à l'injection intradermique d'un antigène spécifique du genre *Fasciola* chez les bovins

Essai préliminaire en vue d'une application au diagnostic de l'infestation

par J. BLANCOU (\*), A. BOUCHET (\*\*) et R. TAILLIEZ (\*\*\*)

## RÉSUMÉ

Un antigène très purifié, extrait de *Fasciola hepatica*, a été utilisé en intradermoréaction chez des zébus atteints de fasciolose. A la dose de 0,000 15 mg et en considérant comme positives les réactions papuleuses de diamètre supérieur à 5 mm, il m'a permis de diagnostiquer l'infestation des bovins que dans 32,2 p. 100 des cas. Bien que ce résultat ait été acquis sans erreur par excès, il paraît encore suffisant.

Le diagnostic de la distomatose bovine à *F. hepatica* ou *F. gigantica* par des techniques d'intradermoréaction a déjà suscité de nombreux travaux, dont les résultats sont souvent discordants. Leur analyse montre, en effet, que la proportion des succès varie de 50 à 100 p. 100 suivant les auteurs (1).

Deux d'entre nous ont utilisé dans le même but un antigène non purifié, délipidé suivant la technique de PAUTRIZEL et collab. (2). Cet antigène a produit des réactions positives dans 65 p. 100 des cas de distomatose, mais avec un grand nombre de réactions par excès (30 à 35 p. 100) (1).

Ce résultat nous a incité à reprendre notre expérimentation en utilisant cette fois un antigène préparé suivant la méthode décrite par

TAILLIEZ, antigène spécifique du genre *Fasciola* du moins dans les limites des comparaisons de structures antigéniques effectuées (3) ; cet antigène appelé « f II p » présente les mêmes caractéristiques physicochimiques et immunologiques, qu'il soit extrait de *F. hepatica* ou de *F. gigantica*.

Il a donné de bons résultats lors d'une première expérimentation concernant le diagnostic de la fasciolose humaine (4).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### MATÉRIEL

#### 1. Animaux

Il s'agissait de zébus malgaches, provenant les uns d'une région où la distomatose à *F. gigantica* n'existe pas, les autres d'une région où elle est endémique (Tsiroanomandidy). Le parasitisme des animaux expérimentés a été vérifié tantôt par autopsie, tantôt par un examen coprologique.

Centre National de Recherches Vétérinaires et Zootechniques, B. P. 862, Tananarive, Rép. Malgache.

(\*) Adresse actuelle : Laboratoire National de l'Élevage et de Recherches Vétérinaires, B.P. 2057, Dakar-Hann, Rép. du Sénégal.

(\*\*) Adresse actuelle : Station de Recherches Vétérinaires Laboratoires PFIZER, 37400 Amboise, France.

(\*\*\*) Laboratoire de Parasitologie. U. E. R. de Pharmacie, Rue Laguesse. 59000 Lille, France.

## 2. L'antigène

Il a été préparé suivant les méthodes déjà décrites (2) : rappelons brièvement que l'extraction est pratiquée par incubation de *Fasciola gigantica* provenant de zébus de Madagascar ou d'ovins européens. Après purification, l'antigène spécifique « f II p » est lyophilisé : sa teneur en azote est dosée par la technique de DUMAS sur autoanalyseur type COLEMAN.

Au moment de l'emploi, il est remis en solution dans de l'eau distillée stérile refroidie à + 4°. Un volume de 0,10 ml de cette solution est injecté à l'aide d'un « Dermo-jet » (\*).

La réaction est lue après environ 60 mn : elle apparaît entre la 15<sup>e</sup> et la 30<sup>e</sup> mn et persiste au moins 2 h. Le diamètre de la réaction papuleuse est apprécié au millimètre.

## MÉTHODES

Notre expérimentation a été conduite en deux temps successifs :

### 1. Recherche de la dose maximale non réactive chez les animaux témoins

Elle a pour but d'éviter essentiellement les réactions positives qui peuvent dépendre d'éventuelles réactions croisées liées à des communautés antigéniques, partielle ou totale, vis-à-vis d'helminthes dont la structure antigénique n'a pas été encore étudiée.

Cette expérimentation a concerné 175 zébus provenant des régions indemnes de distomatose (région de Majunga) :

25 d'entre eux ont eu une injection intradermique de 0,10 de solvant pur, les autres répartis en 3 groupes de 50 ont reçu des quantités décroissantes d'antigènes jusqu'à ce qu'il ne soit plus observé de réaction positive. Le seuil admis comme caractéristique d'une réaction positive est mesuré par le diamètre de la papule qui se forme au point de l'injection : elle ne doit pas dépasser 5 mm chez les animaux témoins, ce qui correspond approximativement à une surface de 20 mm<sup>2</sup>.

### 2. Appréciation de la valeur diagnostique chez des animaux atteints de fasciolose de la dose maximale non réactive chez les animaux témoins

La quantité d'antigène déterminée précédemment a été injectée par voie intradermique à 118 zébus provenant d'une zone d'enzootie parasitaire et infestés de fasciolose à divers degrés.

## RÉSULTATS

### 1. Appréciation de la dose maximale d'antigène ne provoquant pas de réaction chez les animaux témoins

Les résultats de cette expérimentation sont rassemblés dans le tableau suivant :

TABLEAU N° I

Quantité d'antigène (rapportée en azote total)	Nombre de sujets testés	Nombre de réactions positives
0,003 mg	50	6
0,0003 mg	50	3
0,00015 mg	50	0
solvant pur	25	0

On constate qu'il faut abaisser à 0,000 15 mg la quantité d'antigène (rapportée en azote total) pour ne pas obtenir de fausses réactions positives, appréciées par une réaction papuleuse de diamètre supérieur à 5 mm.

### 2. Appréciation de la valeur diagnostique

La dose de 0,000 15 mg précédemment déterminée a été injectée à 118 zébus dont le parasitisme par *F. gigantica* a été précisé, soit *a priori* par un examen coprologique, soit *a posteriori* après autopsie, par la mise en évidence de douves adultes ou immatures dans leurs canaux biliaires.

Les réactions positives se répartissent comme suit entre 2 groupes d'animaux :

TABLEAU N° II

Zébus à coproscopie positive	Nombre des réactions positives	Zébus hébergeant des douves	Nombre des réactions positives
27	12 soit 44,4p.100	91	26 soit 28,4 p.100

On voit donc qu'au total, 32,2 p. 100 de zébus parasités ont été détectés.

(\*) Etablissements AKRA II, Avenue Edouard-VIII, 64000 Pau (France).

## DISCUSSION. CONCLUSION

Dans un travail préliminaire qui a été effectué chez l'homme (4), 22 sujets sur 25 patients atteints de distomatose à *F. hepatica* en France avaient réagi positivement au même antigène « f II p ». La quantité d'antigène injectée rapportée à l'azote total était de 0,000 3 mg. De plus, les réactions étaient interprétées comme positives lorsque la surface des papules excédait 80 mm<sup>2</sup> chez les femmes et les enfants et 100 mm<sup>2</sup> chez l'homme. Des papules aspécifiques étaient provoquées par le sérum salé (0,05 ml) servant de solvant et traduisaient une réaction particulière du derme des malades à ce solvant (les sujets atteints de fasciolose réagissant en effet beaucoup plus au solvant que les sujets témoins).

La comparaison de ces résultats à ceux du présent travail nous amène de suite à deux constatations fondamentales :

— d'abord, dans les conditions expérimentales propres à chaque essai, l'intradermoréaction a produit chez l'homme des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus chez le zébu ;

— ensuite, l'antigène « f II p » spécifique chez l'homme, au moins en France dans le contexte parasitaire (au sens large du terme) qui y règne, paraît au contraire présenter une communauté antigénique au moins partielle avec

la faune ou la flore parasitaire hébergée par les zébus issus de zone sans distomatose. A moins que les réactions positives constatées chez ces derniers ne résultent d'une réaction d'irritation aspécifique provoquée par l'antigène lui-même et dépendant d'une susceptibilité particulière du derme des zébus.

Nous essaierons, dans une seconde étude, de vérifier le bien fondé de l'une ou l'autre de ces hypothèses.

De plus, comme nos exigences concernant la lecture des réactions positives nous ont conduit à utiliser chez le zébu une dose d'antigène de 0,000 15 mg, deux fois inférieure à celle préconisée chez l'homme, il est possible et même vraisemblable que cette posologie soit à l'origine du succès limité que nous avons obtenu. Dans ces conditions, avant de conclure définitivement, entreprendrons-nous une nouvelle expérimentation avec des doses d'antigènes supérieures, ce qui nécessitera évidemment une nouvelle définition du diamètre (ou de la surface) minimal de la papule qui puisse être interprété comme le gage d'une réaction positive.

*Toutefois, dans l'état actuel de ces recherches préliminaires, la méthode reste valable dans les limites que nous avons définies et peut rendre d'importants services lors d'enquêtes épizootiologiques à l'échelon d'un pays.*

## SUMMARY

### Intra-dermal reaction in cattle with an antigen specific of *Fasciola* genus first trial as a diagnostic method

Using a highly purified antigen, prepared from *Fasciola hepatica*, the intra-dermal test in zebus was positive in 32.2 p. 100 of infected animals, without false results.

These results could be improved if the minimal positive response (i.d. : 5 mm) and the minimal amount of N. antigen (i.d. : 0,000 15 mg) could be increased without more false results. Therefore the test is efficient for regional survey of fascioliasis spread in cattle.

## RESUMEN

### Reacciones a la inyección intradérmica de un antígeno específico del género *Fasciola* en los bovinos : ensayo preliminar con el fin de una aplicación al diagnóstico de la infestación

Se utilizó en intradermoreacción un antígeno muy purificado, extraído de *Fasciola hepatica*, en cebues atacados por la fascioliasis. En dosis de 0,000 15 mg y considerando como positivas las reacciones papulosas de diámetro superior a 5 mm, no fue posible de diagnosticar la infestación de los bovinos más que en 32,2 p. 100 de los casos. Aunque se obtuviese dicho resultado sin error por exceso, este todavía parece insuficiente.

En otro estudio, se verifica la posibilidad de aumentación del porcentaje de las fascioliasis evidenciadas al inyectar una dosis de antígeno superior, después de haber revisado el diámetro mínimo (o la superficie mínima) de la

reacción papulosa que se puede interpretar como la indicación de una reacción positiva. Actualmente, este antígeno purificado sera muy util para las encuestas regionales sobre la fascioliasis bovina.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. BLANCOU (J.), BOUCHET (A.) et DAYNES (P.). Etude sur l'allergie, les anticorps précipitants et les anticorps fixant le complément au cours de l'infestation des bovins par *Fasciola gigantica*. *Rev. Elev. Med. vét. Pays trop.*, 1971, **24** (3) : 373-379.
2. PAUTRIZEL (R.), BAILENGER (J.), DURET (J.) et TRIBOULEY (J.). Utilisation d'un antigène distomatien délipidé dans le diagnostic allergique de la distomatose à *Fasciola hepatica*. *Rev. Immunol. Thér. Microb.*, 1962, **26** (3) : 167-174.
3. TAILLIEZ (R.). Isolement et étude d'un antigène spécifique de la grande douve du foie (*Fasciola hepatica* L.). *Biol. méd.* 1970, **9** (3) : 183-288.
4. THUMEREL (M.). Utilisation d'un antigène purifié de *Fasciola hepatica* dans le diagnostic par intradermoréaction de la distomatose humaine. Thèse Doct. Méd., Lille, 1971.