

# RECHERCHE IMMUNOLOGIQUE SYSTÉMATIQUE DE TOXOPLASMOSE CHEZ LES PETITS MAMMIFÈRES SAUVAGES EN FRANCE

J. M. DOBY, G. DESMONTS, J. C. BEAUCOURNU et G. T. AKINCHINA

Section d'Epidémiologie des zoonoses du Laboratoire de Parasitologie et Zoologie appliquée, Unité „Santé dans la Collectivité“ de l'Université de Rennes, et Laboratoire de la toxoplasmose, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris

**Abstract.** Immunological study of toxoplasmosis was performed by the method of lysis test. The authors examined about 2000 wild small mammals belonging to 48 species and originating from 32 French regions and from Portugal. Eight highly positive results, i.e. those corresponding to the concentration higher than 300 international units per ml of blood, were obtained with carnivores Mustelidae (6 of 19) and with rats (2 of 44). Eleven results, showing lower positivity, were obtained with various insectivores, rodents, lagomorphs and chiropters. The results confirm that toxoplasmosis is an authentic zoonosis with natural focus. With the exception of Mustelidae, the percentage of positivity is lower than that obtained by some other authors, particularly from the countries of the Central and Eastern Europe. These differences have been explained by various hypotheses.

En 1963, l'un de nous a présenté, à Prague, lors du Symposium international sur les maladies à foyers naturels (Doby et coll. 1965), le résultat d'une recherche de toxoplasmose chez les petits mammifères sauvages, par examen histologique de l'encéphale de 600 d'entre eux. Si d'autres germes (*Frenkelia*, microsporidies du genre *Thelohania*) avaient pu être observés avec une relative fréquence, par contre, la recherche de toxoplasmes avait été totalement négative. Cette recherche systématique par la même méthode s'est poursuivie jusqu'à un total de 1039 petits mammifères (Jeannes 1968). Elle n'a permis de trouver des kystes de toxoplasmes que dans l'encéphale d'une seule *Mustela erminea* en provenance de Haute-Savoie.

Devant des résultats aussi négatifs, nous avons alors entrepris de compléter la recherche histologique par une recherche immunologique, en utilisant la méthode de Sabin-Feldman modifiée. Entre temps, deux d'entre nous (Akinchina et Doby 1968) avaient pu isoler une souche de toxoplasmes de l'encéphale d'un chiroptère, *Myotis bechsteini*, en provenance du Maine-et-Loire, isolement confirmant l'observation directe de kystes à frais par écrasement de la partie frontale du cerveau.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

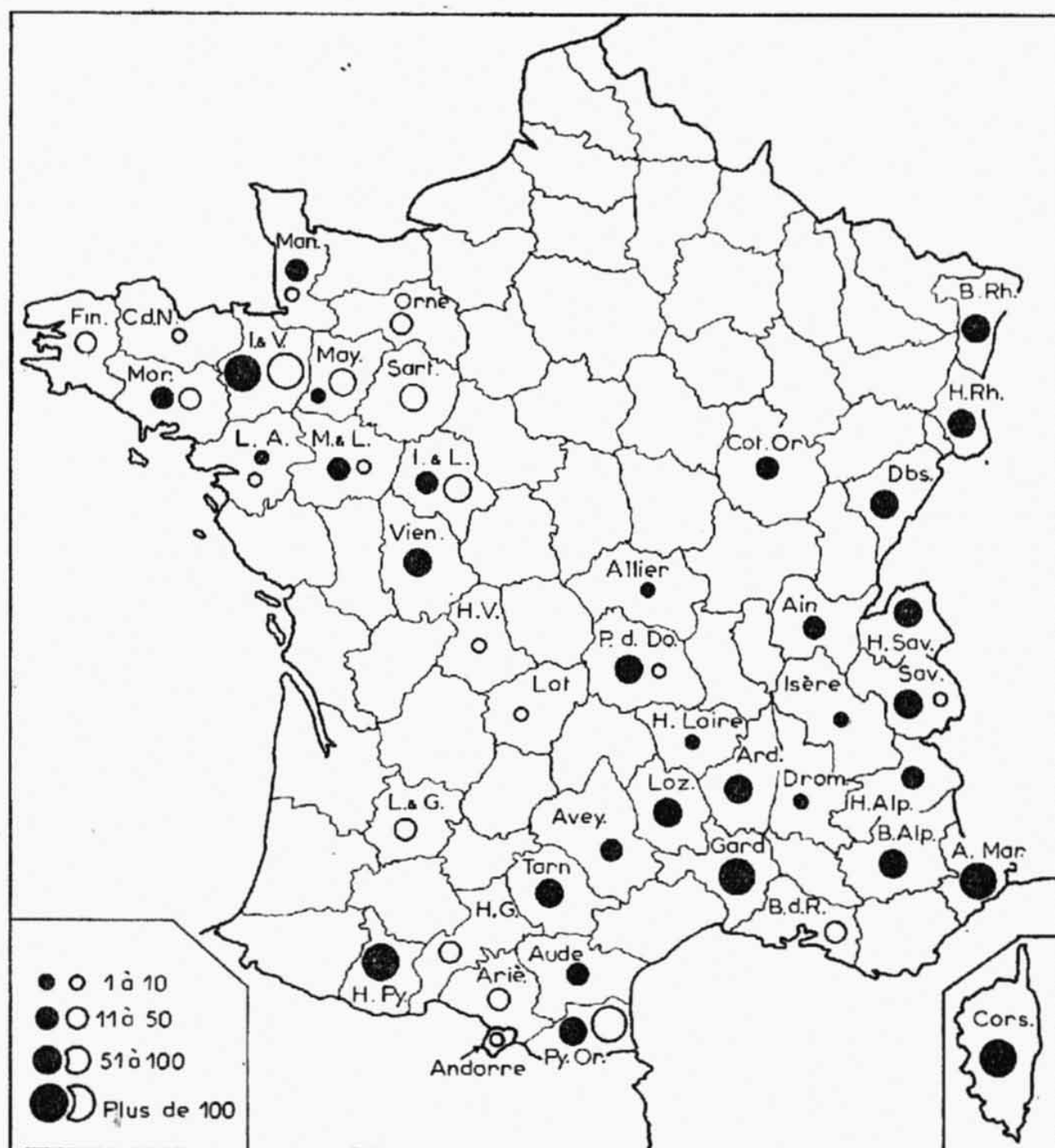
Depuis 1968, 1998 petits mammifères sauvages appartenant à 48 espèces ont été récoltés dans 32 départements français (Fig. 1) et au Portugal (300 animaux). Les 3037 animaux étudiés en tout (histologiquement et immunologiquement) sont énumérés dans la liste ci-jointe (Tab. 1).

En ce qui concerne les examens immunologiques, les animaux ont été obtenus le plus souvent vivants. Après anesthésie à l'éther, le sang a été récolté, à la pipette héparinée, par ponction dans

Travail en partie effectué avec l'aide financière de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (C.R.L. No. 73.1.039.3).

le plexus sanguin péri-orbitaire. Le sang des environ 1 000 premiers animaux capturés fut centrifugé sur le lieu même de la capture et le sérum conservé aux environs de 0° jusqu'à son arrivée au laboratoire, où il fut lyophilisé et stocké au froid avant examen.

Pour les 1 000 autres, le prélèvement de sang fut mis sur rondelles ou bandes de papier absorbant Durieux n° 268. Après dessiccation rapide, la conservation de ce matériel eut lieu à température ordinaire et à l'abri de l'humidité. Pour la recherche immunologique, l'élution et l'étude du matériel furent effectuées dans les conditions suivantes: un fragment de la tache de sang prélevé à l'aide d'un emporte-pièce a été élué dans 0,1 ml de sérum salé isotonique. L'étude d'un sang témoin examiné dans les mêmes conditions nous a montré que cet éluat correspondait à peu près à une dilution au 1/20 du sérum.



NOMBRE GLOBAL D'ANIMAUX EXAMINÉS HISTOLOGIQUEMENT ○  
ET SÉROLOGIQUEMENT ● PAR DÉPARTEMENT

Fig. 1.

Tab. 1. Liste des animaux examinés sur la toxoplasmose.

Ordre	Famille	Espèce	Nombre d'animaux examinés par méthodes		
			histo- logique	séro- logique	Total
Insectivores	Erinacéidés	<i>Erinaceus europaeus</i> L., 1758	2	4	6
	Talpidés	<i>Talpa europaea</i> L., 1758	5	29	34
		<i>Talpa caeca</i> Savi, 1822	—	1	1
		<i>Galemys pyrenaicus</i> (E. Geoffroy, 1811)	2	—	2
	Soricidés	<i>Crocidura russula</i> (Hermann, 1780)	36	67	103
		<i>Sorex araneus</i> L., 1758	29	26	55
Chiroptères	Rhinolophidés	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i> (Schreber, 1775)	2	4	6
		<i>Rhinolophus hipposideros</i> (Bechstein, 1800)	2	—	2
		<i>Rhinolophus euryale</i> Blasius, 1835	—	3	3
	Vesper- tilionidés	<i>Myotis myotis</i> (Bechstein, 1789)	7	2	9
		<i>Myotis blythi oxygnathus</i> (Monticelli, 1855)	1	2	3
		<i>Myotis mystacinus</i> (Leisler, 1819)	2	2	4
		<i>Myotis bechsteini</i> (Leisler, 1819)	1	4	5
		<i>Myotis emarginatus</i> (E. Geoffroy, 1806)	2	4	6
		<i>Myotis nattereri</i> (Kuhl, 1819)	2	1	3
		<i>Myotis daubentonii</i> (Leisler, 1819)	1	2	3
		<i>Miniopterus schreibersi</i> (Natterer, 1819)	6	4	10
		<i>Eptesicus serotinus</i> (Schreber, 1775)	—	1	1
		<i>Pipistrellus pipistrellus</i> (Schreber, 1775)	—	1	1
		<i>Barbastella barbastellus</i> (Schreber, 1775)	1	3	4
		<i>Plecotus austriacus</i> Fischer, 1829	—	2	2
Rongeurs	Sciuridés	<i>Sciurus vulgaris</i> L., 1758	2	1	3
	Gliridés	<i>Elomys quercinus</i> (L., 1766)	8	31	39
		<i>Glis glis</i> (L., 1766)	2	11	13
		<i>Muscardinus avellanarius</i> (L., 1758)	—	1	1
	Muridés	<i>Rattus rattus</i> (L., 1758)	5	40	45
		<i>Rattus norvegicus</i> (Berk., 1769)	9	4	13
		<i>Apodemus sylvaticus</i> (L., 1758)	599	836	1435
		<i>Apodemus flavicollis</i> (Melchior, 1834)	8	68	76
		<i>Mus musculus</i> (synanthrope)	6	24	30
		<i>Mus musculus</i> (exoanthrope)	6	295	301
		<i>Micromys minutus</i> (Pallas, 1778)	1	2	3
	Cricétidés	<i>Cricetus cricetus</i> (L., 1758)	—	42	42
	Microtidés	<i>Clethrionomys glareolus</i> (Schreber, 1780)	223	243	466
		<i>Microtus agrestis</i> (L., 1758)	7	44	51
		<i>Microtus arvalis</i> (Pallas, 1778)	22	17	39
		<i>Microtus nivalis</i> (Martins, 1842)	1	52	53
		<i>Pitymys subterraneus</i> (De Selys-Longchamps, 1836)	6	14	20
		<i>Pitymys multiplex</i> (Fatio, 1905)	—	7	7

Ordre	Famille	Espèce	Nombre d'animaux examinés par méthodes		
			histo- logique	séro- logique	Total
		<i>Pitymys lusitanicus</i> (Gerbo, 1879)	—	4	4
		<i>Pitymys duodecimcostatus</i> (De Selys-Longchamps, 1839)	—	4	4
		<i>Arvicola sapidus</i> Miller, 1908	22	5	27
		<i>Arvicola terrestris</i> (L., 1758)	—	5	5
		<i>Ondatra zibethica</i> (L., 1766)	1	—	1
Lago- morphes	Léporidés	<i>Lepus capensis</i> L., 1758	—	67	67
Carnivores	Mustelidés	<i>Mustela nivalis</i> L., 1766	4	10	14
		<i>Mustela erminea</i> L., 1766	1	6	7
		<i>Mustela putorius</i> L., 1766	1	1	2
		<i>Martes foina</i> (Erxleben, 1773)	—	2	2
		<i>Meles meles</i> (L., 1766)	1	—	1
			1039	1998	3037

Pour un peu plus de 200 de ces animaux, capturés en 1968 dans le Massif Central et le sud-est de la France, l'examen immunologique fut pratiqué parallèlement à la recherche à frais des pseudokystes au microscope, sur les lobes frontaux écrasés entre lame et lamelle. Tous ces examens directs furent négatifs, bien que l'un de ces animaux, une *Mustela nivalis*, ait été immunologiquement fortement positif.

## RÉSULTATS

Les examens immunologiques de ces 1998 petits mammifères sauvages ont donné les résultats suivants:

1) 8 résultats fortement positifs, c'est-à-dire jusqu'à dilution au moins égale à 1/1600, correspondant à une concentration par ml supérieure à 300 unités internationales. Ils se décomposent ainsi:

6 Mustélidés sur 19 examinés: — 4 *Mustela nivalis*, en provenance d'Ille-et-Vilaine. Puy-de-Dôme, Lozère et Aude, 1 *Mustela erminea*, en provenance des Hautes-Pyrénées, 1 *Martes foina*, en provenance d'Ille-et-Vilaine.

2 *Rattus* sur 44 examinés: 1 *Rattus norvegicus* en provenance des Alpes-Maritimes. 1 *Rattus rattus* en provenance du Portugal.

2) 11 résultats faiblement positifs, c'est-à-dire à des dilutions allant de 1/10 à 1/40 (soit de 2 à 8 unités internationales/ml): 3 *Apodemus sylvaticus* en provenance de Lozère, Ardèche et Portugal, sur 836 examinés, 2 *Mus musculus exoanthropes* en provenance du Gard et du Portugal, sur 295 examinés, 3 *Lepus capensis*, en provenance du Haut-Rhin, sur 67 examinés, 1 *Erinaceus europaeus*, en provenance d'Ille-et-Vilaine, sur 4 examinés, 1 *Myotis daubentonii*, en provenance du Maine-et-Loire, sur 35 chauves-souris examinées, appartenant à 15 espèces différentes, 1 *Crocidura russula*, en provenance des Pyrénées-Orientales, sur 93 musaraignes examinées.



## COMMENTAIRES

Ce sont surtout les rats et les lièvres qui ont fait l'objet de recherches systématiques dans de nombreux pays. Par contre, les autres petits mammifères sauvages n'ont été étudiés d'une façon statistiquement valable que dans les pays d'Europe orientale et centrale, U. R. S. S., Tchécoslovaquie et Pologne essentiellement.

Les résultats des principales enquêtes peuvent être rapidement analysés.\*

### I. INSECTIVORES

#### a) Genre *Erinaceus* (espèces *europaeus*, *roumanicus* et *auritus*)

Les taux d'infestation observés sont généralement élevés, les plus élevés d'ailleurs, semble-t-il, avec ceux observés chez les Mustélidés. Ceci est logique, compte tenu du fait que, bien que essentiellement insectivore, le hérisson dévore volontiers des petits mammifères morts, ou même parfois s'attaque à certains encore vivants.

Toutefois, les rares travaux systématiques effectués sur les hérissons portent généralement sur un petit nombre de ceux-ci. Nous pouvons citer les publications, en Tchécoslovaquie, de Havlík et Hübner (1958 — d. t.: 5 positifs sur 12), Pokorný et coll. (1961 — d. t.: 6/6), de Zástěra et coll. (1963 — d. t.: 21/30), en U. R. S. S. (Kazakhstan), de Galuzo et Levit (1962 — f. c.: 1/9) et de Levit et coll. (1965 — f. c.: 1/11) et tout récemment, en Autriche, de Werner et coll. (1973 — d. t.: 6/129).

Nos examens n'ont porté que sur 4 *Erinaceus europaeus*, mais ont permis d'obtenir un résultat positif.

#### b) Famille des Soricidae (genres *Crocidura*, *Sorex* et *Neomys*)

Sont à signaler les travaux, en Pologne, de Uminski et coll. (1961 — f. c.: 2/55 et 1964 — f. c.: 3/5), en U. R. S. S., de Dunaeva et Zasukhin (1961 — D.: 14/386), Krasnova (1963 — D.: 3,3 %), Konovalova (1964 — D. et f. c.: 0/52) et Levit et coll. 1965 — D.: 11/142), en Tchécoslovaquie enfin, Čatár (1972 — D. et f. c.: 0/117).

En ce qui nous concerne, rappelons que nous n'avons obtenu qu'un seul résultat positif chez 1 sur 67 *Crocidura russula* examinées et aucun sur 26 *Sorex araneus*.

### II. CHIROPTÈRES

Les publications sur la fréquence de la toxoplasmose dans ce groupe de mammifères sont, ici encore, rares, vraisemblablement en raison de la relative difficulté des captures. La plupart des résultats d'enquêtes systématiques sont négatifs. Nous pouvons ainsi citer ceux de Orio et coll., au Congo (1958 — D. et I.: 0/78), de Cook et coll., en Australie (1959 — I. et f. c.) et en Tchécoslovaquie, de Havlík et Hübner (1960 — d. t.: 0/31) et de Pokorný et coll. (1961 — d. t.: 0/26).

Ont seuls été positifs les résultats obtenus par les chercheurs de l'Institut de Zoologie d'Alma-Ata, au Kazakhstan, utilisant une méthode de fixation du complément: Galuzo et coll. (1962 — 21/299, 1964 — „nombreux résultats positifs“ sur 430, 1965 — 21/426).

Une réserve est toutefois peut-être à faire sur la signification de ces résultats et sur la spécificité de la réaction utilisée puisque, par cette même méthode de fixation du complément, ces mêmes auteurs (Galuzo et Levit 1962) ont obtenu plus de 50 % de réactions sérologiques positives chez certains batraciens (*Rana ridibunda*).

En ce qui nous concerne, un seul résultat de recherche immunologique fut positif chez une *Myotis daubentonii* sur un total de 35 chauves-souris appartenant à 15 espèces différentes. Nous rappelons que deux de nous (Akinchina et Doby 1968) ont pu observer des toxoplasmes à frais dans l'encéphale d'une *Myotis bechsteini* et isoler la souche par inoculation à la souris. Le dye-test était négatif chez cette chauve-souris, mais positif chez plusieurs des souris inoculées à partir de celle-ci.

\* Les publications concernant les résultats d'enquêtes systématiques, soit par recherche microscopique directe, à frais ou après coloration („D.“), soit par isolement de souches à la suite de passage sur souris („I.“), soit par utilisation de diverses méthodes sérologiques (essentiellement fixation du complément: „f. c.“, et dye-test, ou test de lyse: „d. t.“) sont si nombreuses dans la littérature (plusieurs centaines à notre connaissance) que nous ne ferons ici état que de celles d'une part ayant porté sur un nombre suffisamment important d'animaux, d'autre part ayant concerné des espèces identiques ou voisines de celles examinées par nous-mêmes et en nombre suffisant pour qu'une comparaison puisse être valablement tentée.

### III — RONGEURS SYNANTHROPES ET EXOANTHROPES\* DES GENRES *RATTUS* ET *MUS*

En ce qui concerne le genre *Rattus*, nous avons pu relever plus de 40 publications faisant état d'enquêtes dans pratiquement toutes les régions du globe. Les résultats varient ici considérablement, les pourcentages de positivité obtenus par les diverses méthodes pouvant aller de 0 %, même au cours d'enquêtes portant sur un nombre d'animaux dépassant la centaine, jusqu'à plus de 35 %. Peuvent ainsi être cités avec résultats négatifs, les travaux de: Miller et Feldman, aux U. S. A. (1953 — d. t.), Dymowska et coll., en Pologne (1955 — D. et f. c.), Morris et coll., aux U. S. A. (1957 — f. c.), Mercier et Pangalos, en Grèce (1957 — D. et I.), Orio et coll., au Congo (1958 — D. et I.), Polman, aux Pays-Bas (1959 — d. t.), etc...

Par contre, en ce qui concerne les enquêtes avec pourcentages d'infestation élevés peuvent être signalés, aux U. S. A., les travaux de Eyles (1952 — d. t.: 20 %), en Grande-Bretagne, de Beverley et coll. (1954 — d. t.: 34 %), au Japon, de Izutani (1958 — d. t.: 26,7 %), au Mexique, de Varela et coll. (1959 — d. t.: 36,3 %) et en U. R. S. S., de Grigoratchenko et coll. (1963 — f. c.: 33,3 %) et de Melnik et coll. (1971 — f. c.: 20,2 %).

Certains auteurs d'ailleurs signalent des différences considérables dans les taux de positivité selon l'origine des rats examinés au cours d'une même enquête. Ainsi, Eyles (1959) trouve 20 % d'animaux positifs chez des rats capturés en ville, mais n'en trouve aucun chez ceux capturés à la campagne. En ce qui concerne les souris, ici aussi, les résultats peuvent différer considérablement, allant de 0 %, par exemple, en Grande-Bretagne, Lainson (1957 — I.: 0/400 souris de maison), en Yougoslavie, Golochin (1960 — D. I.), jusqu'à des pourcentages pouvant dépasser 10 %, par exemple Slowakiewicz et coll., en Pologne (1972 — d. t.: 12 %).

Sur 40 *Rattus rattus* et 4 *Rattus norvegicus* par nous examinés, un animal de chacune des deux espèces fut trouvé fortement positif. Il est intéressant de signaler que le *Rattus norvegicus* positif figurait parmi les trois seuls animaux pris en ville, tous les autres *Rattus* ayant été capturés loin d'habitations. En ce qui concerne les souris, aucune ne fut trouvée positive sur 24 appartenant à la variété synanthrope (*Mus musculus musculus*), et 2 faiblement positives sur 295 appartenant à des variétés exoanthropes (*Mus musculus brevis* et *Mus musculus sylvaticus*).

### IV — RONGEURS SAUVAGES

#### a) Genre *Apodemus* (espèces *sylvaticus*, *flavicollis* et *agrarius*):

Les observations de fréquence élevée d'infestation toxoplasmique chez les rongeurs du genre *Apodemus* sont exceptionnelles. Nous pouvons citer les travaux de Laven et Westphal, en Allemagne (1950 — d. t.: 7/49) et Slowakiewicz et coll., en Pologne (1972 — d. t.: 9 à 10 % sur 563 *A. agrarius* et *A. flavicollis*). Par contre, beaucoup d'auteurs obtiennent des résultats négatifs, par exemple Uminski et coll. en Pologne (1961 — f. c.), Konovalova, en U. R. S. S. (1961 — f. c.) ou très rarement positifs, par exemple Levit et coll., au Kazakhstan (1965 — f. c.: 3/484 *A. agrarius* et *A. sylvaticus*).

En ce qui nous concerne, 4 *Apodemus sylvaticus* sur un ensemble de 904 *A. sylvaticus* et *A. flavicollis* furent faiblement positifs.

#### b) Genre *Cricetus*:

A notre connaissance, 2 publications seulement font état de recherches systématiques de toxoplasme sur des rongeurs appartenant au genre *Cricetus*. Les résultats furent négatifs: en Pologne, Uminski et coll. (1961 — f. c.: 0/31) et, au Kazakhstan, Levit et coll. (1965 — f. c.: 0/14).

De même, nos recherches, portant sur 42 *Cricetus cricetus*, furent négatives. Il convient de dire toutefois que tous ces animaux provenaient d'une zone géographiquement très limitée de l'Est de la France.

\* Nous pensons utile de considérer d'une façon particulière les rongeurs des genres *Rattus* et *Mus*, car ils renferment pratiquement les seuls petits mammifères synanthropes et par conséquent susceptibles d'avoir une importance épidémiologique particulière dans l'entretien de la toxoplasme dans l'environnement immédiat de l'homme.

Nous avons antérieurement (Doby et coll. 1965) attiré l'attention sur le nombre des observations faisant état de fréquences d'infections toxoplasmiques plus élevées chez les animaux sauvages vivant à proximité des habitations de l'homme. Depuis, d'autres ont signalé ce phénomène, par exemple: Gibb et coll. (1966) en Australie, et, tout récemment, Werner et coll. (1973), en Autriche orientale. L'explication réside sans doute, en partie du moins, dans le rôle particulier du chat dont l'importance épidémiologique est de connaissance relativement récente.

c) Genre *Clethrionomys* (espèces *glareolus*, *rutilus* et *frater*):

Ce n'est que dans les pays de l'Europe orientale et centrale que des rongeurs du genre *Clethrionomys* ont fait l'objet d'examen systématique, d'ailleurs avec des résultats très variables. Ainsi, en U. R. S. S., Dunaeva et Zasukhin (1961 — I.) n'obtinrent aucun résultat positif. Par contre, en Pologne, Uminski et Strotchinska (1964 — f. c.) et Slowakiewicz et coll. (1972 — d. t.) obtinrent respectivement 8 et 6 % de résultats positifs. De même, en Tchécoslovaquie, Havlík et Hübner (1960 — d. t.) et Zástěra et coll. (1963 — d. t.) obtinrent respectivement 9 et 8 % de résultats positifs.

Entre ces deux séries de résultats extrêmes, des pourcentages intermédiaires furent obtenus, par exemple par Levit et coll., au Kazakhstan (1965 — f. c.: un peu moins de 1 % chez *Clethrionomys frater* et *C. rutilus*) et par Čatár, en Tchécoslovaquie (1972 — f. c.: 1,6 %). Rappelons à ce sujet qu'une souche de toxoplasmes a pu être isolée, en Tchécoslovaquie, des glandes salivaires d'un *Clethrionomys glareolus* par Hübner et Uhlíková en 1970.

En ce qui nous concerne, les examens portant sur 243 *Clethrionomys glareolus* furent tous négatifs.

d) Genre *Microtus* (espèces *arvalis*, *socialis*, *agrestis*, *gregalis*, *nivalis* et *oeconomus*):

Ici aussi, des rongeurs appartenant à ce genre ne furent examinés pratiquement que dans les pays de l'Europe orientale et centrale. Nous pouvons citer les travaux de: — en U. R. S. S., Dunaeva et Zasukhin (1961 — D. et I.: 1/211 *Microtus arvalis* et *M. oeconomus*), Levit et coll. (1965 — D.: 2/205 *Microtus gregalis*, *M. arvalis* et *M. oeconomus*), en Tchécoslovaquie, Čatár (1972 — f. c.: 5,8 % sur 138 *Microtus arvalis* et 0/30 *M. agrestis* et *M. nivalis*), en Pologne enfin, Uminski et coll. (1961 — f. c.), Uminski et Strotchinska (1964 — f. c.) et Slowakiewicz et coll. (1972 — d. t.), respectivement 8/269 *Microtus arvalis*, 0/68 *Microtus oeconomus*, *M. agrestis* et *M. arvalis*, et 10 % chez *M. arvalis*.

En ce qui nous concerne, les résultats furent négatifs chez 113 *Microtus agrestis*, *M. arvalis* et *M. nivalis*.

## V — LAGOMORPHES

Nous ne ferons pas état ici des publications concernant les lapins domestiques, mais de celles ayant trait aux examens systématiques de lièvres. Ces publications, relativement nombreuses, donnent, à de très rares exceptions près (par exemple Polman (1959 — d. r.), aux Pays-Bas, qui obtient des résultats négatifs et Werner et coll., en Autriche (1973 — d. t.: 1/196), des pourcentages d'infestation généralement élevés. Par exemple, les recherches par méthode directe (D.) révèlent des pourcentages se situant entre 5 et 15%: par exemple, en Tchécoslovaquie, Rašín (1948 — 7%), Pokorný (1955 — 5/38), Jírovec (1961 — 13%) et au Danemark, Christiansen (1948 — 8%).

Si la recherche est faite par méthodes immunologiques, le pourcentage des positivités monte considérablement et peut même atteindre près de 50%. C'est ainsi, toujours en Tchécoslovaquie, que nous pouvons citer: Havlík et Hübner (1958 — d. t.: 23/82), Jírovec (1961 — d. t.: 28,3%) et Čatár (1972 — f. c.: 13/41), en Roumanie, Elias (1966 — d. t.: 45,3 %)\* et en U. R. S. S.: Levit et coll., au Kazakhstan (1965 — f. c.: pourcentages allant de 15,6 % à 57,10% chez 398 *Lepus* divers, suivant les espèces et la période de l'année).

En ce qui nous concerne, nos résultats révèlent 3 *Lepus capensis* faiblement positifs sur 67 examinés.

## VI — MUSTÉLIDÉS

A notre connaissance du moins, relativement peu de travaux systématiques ont été effectués sur cette famille, pourtant, semble-t-il, de loin la plus fréquemment atteinte. Ainsi, Lainson (1957), en Grande Bretagne, observe histologiquement des toxoplasmes ou en isole des souches chez 5 Mustélidés sur 5 examinés.

En 1960 Havlík et Hübner, en Tchécoslovaquie, n'observent de réactions positives (d. t.) que chez 2/11 examinés. En 1961, également en Tchécoslovaquie, Pokorný et coll. isolent une souche de toxoplasmes du seul Mustélidé examiné. En 1962, au Kazakhstan, Galuzo et Levit obtiennent 15 résultats positifs (f. c.) sur 18 sérums examinés. Antérieurement d'ailleurs, Levit (1960) avait pu isoler dans cette même région une souche de toxoplasmes d'une *Mustela eversmanni*.

Nos résultats révèlent un pourcentage de positivité relativement élevé, soit chez environ un animal sur 3 examinés. Nous rappelons que notre seule trouvaille histologique de toxoplasmes a été effectuée dans le cerveau d'un Mustélidé sur 7 examinés par cette méthode.

\* Concernant cette publication toutefois, il ne nous a pas été possible de savoir si le pourcentage donné concernait seulement les lièvres ou un ensemble de lièvres et de lapins.



## DISCUSSION

Que peut-on conclure de nos résultats et de leur comparaison avec ceux obtenus par d'autres :

Ils confirment d'abord la présence de l'infestation toxoplasmique chez les petits mammifères sauvages en France et au Portugal. La toxoplasmose est donc une authentique zoonose à foyer naturel. Toutefois, les Mustélidés et les rats synanthropes semblent présenter une fréquence plus élevée, du moins autant que nous puissions en juger sur le nombre des animaux par nous examinés.

Nos pourcentages de positivité cependant, dans l'ensemble, sont sensiblement plus faibles que ceux obtenus par beaucoup des auteurs précités, à l'exception de ceux, tout récents, de Werner et coll. (1973). Il est certes difficile de comparer les résultats obtenus d'un auteur à un autre, les enquêtes étant effectuées d'une part dans des zones géographiques éloignées les unes des autres, d'autre part avec des méthodes d'étude souvent très variables, les différences observées dans les pourcentages d'infestation étant alors très artificielles.

Le test de lyse des toxoplasmes que nous avons utilisé est une variante du dye-test de Sabin et Feldman; il se montre très sensible pour déceler l'infection chez les rongeurs de laboratoire.

Nous avons voulu en vérifier expérimentalement la valeur, chez les rongeurs sauvages. Deux souches ont été inoculées à des *Clethrionomys glareolus* et *Apodemus sylvaticus*, d'une part la souche virulente RH, entretenue sur souris, d'autre part une souche peu virulente, la souche „Montaigu“(\*).

Avec la première, 4 animaux ont été inoculés en intra-péritonéal. Le sang du premier, sacrifié 3 jours après l'inoculation, a donné lieu à une réaction négative, résultat normal dans ces délais. Les sérums de 2 autres, sacrifiés 5 jours après l'inoculation, furent positifs respectivement à 1/80 et à 1/800. Le sérum du dernier, sacrifié 8 jours après inoculation, fut positif à 1/1600, c'est-à-dire avec un taux d'anticorps correspondant à environ 300 unités internationales.

Avec la seconde souche, 6 animaux furent inoculés; 4 eurent leurs sérums testés respectivement 22, puis 45 jours après l'inoculation, avec réaction positive chaque fois supérieure à 1/1000. Lors de leur sacrifice à 45 jours, leur cerveau révéla chaque fois la présence de kystes toxoplasmiques. Les 2 derniers furent sacrifiés 5 mois après l'inoculation. Le sérum de l'un fut positif à 1/1600, celui de l'autre fut négatif, ce qui laisse à penser que les anticorps peuvent disparaître dans des délais assez brefs. Les circonstances ne nous permirent pas de vérifier la présence ou l'absence de toxoplasmes dans le cerveau de ces 2 animaux. Rappelons à ce propos le résultat négatif obtenu par nous, sur le sérum d'une chauve-souris trouvée pourtant spontanément infectée à l'examen direct de l'encéphale. Compte tenu de cette restriction, la valeur de la méthode utilisée ressort par ailleurs des résultats parfois très fortement positifs obtenus par exemple chez les Mustélidés et chez les *Rattus*.

Une deuxième hypothèse à envisager serait que la rareté de nos résultats positifs résulterait d'une mauvaise conservation des sérums entre le moment du prélèvement, toujours effectué sur le terrain même, et l'examen immunologique, fait quelquefois plusieurs mois plus tard. Cette mauvaise conservation se traduirait par une perte importante de la réactivité des anticorps renfermés.

Nous avons dit antérieurement que, pour environ la moitié des animaux par nous examinés, les sérums ont été séparés sur le terrain par centrifugation, conservés au

\*) Il s'agit d'une souche peu virulente isolée d'un cas de toxoplasmose congénitale en Vendée, qui nous a été fournie très aimablement par notre collègue le Professeur Vermeil, de Nantes, que nous tenons ici à remercier très vivement.



froid (entre  $-2$  et  $+4$  °C), puis lyophilisés dès l'arrivée au laboratoire. Pour la seconde moitié, le sang a été absorbé sur papier, desséché, et conservé au laboratoire, à température ordinaire, à l'abri de l'humidité, et de vapeurs de substances éventuellement fixatrices, jusqu'à élution pour récupération du sérum. Dans d'autres circonstances, l'utilisation de cette deuxième méthode de récolte ne s'est traduite que par une diminution très partielle du taux des anticorps avec le temps. La récolte de sang sur papier absorbant, avec dessiccation et examen immunologique ultérieur après élution, est une méthode désormais classique, utilisée couramment au cours d'enquêtes bactériologiques, virologiques, parasitologiques, hématologiques, avec des résultats très acceptables alors pourtant que les conditions de conservation du matériel récolté sont souvent (régions tropicales notamment) beaucoup moins favorables que les nôtres. Rappelons d'ailleurs qu'avec ces deux types de prélèvements et de conservation du matériel, une fréquence élevée de résultats fortement positifs a pu être obtenue par exemple chez les Mustélidés (6/19).

Dans l'autre sens, on peut également envisager que certains résultats donnés par d'autres dépassent en fait les pourcentages de positivité réels, car obtenus avec l'utilisation de méthodes trop sensibles, donnant lieu à des phénomènes de réactions croisées. La possibilité de telles réactions a d'ailleurs été affirmée par certains. C'est ainsi que Muhlþfordt (1951), Awad et Lainson (1954) ont signalé des réactions croisées avec *Toxoplasma* chez des animaux infectés par des *Sarcocystis*. Par contre, Moscovici (1954 — in Beattie, 1959) n'en a pas observées. De même, Westphal (1952) a obtenu des réactions croisées entre toxoplasmes et trypanosomes. Toutefois, Gronroos et Salminen (1955), puis Jacobs (1959) n'en ont pas observées. Nous-mêmes (Doby et Beaucournu 1972) n'avons pas relevé de réactions croisées entre *Toxoplasma*, pourtant reconnu depuis peu comme un *Isospora*, et *Isospora hominis*, chez l'homme spontanément infesté.

L'hypothèse de résultats positifs dépassant la réalité des faits, par suite de réactions croisées, n'est sans doute valable toutefois que pour certains des résultats précités. Rappelons par exemple ceux des chercheurs soviétiques qui, au Kazakhstan, ont obtenu des pourcentages particulièrement élevés en fixation du complément, même chez des vertébrés à sang froid (Galuzo et Levit 1962 — plus de 50% de positivité chez *Rana ridibunda*).

Le choix de la dilution positive considérée comme significative pour la réaction immunologique peut également intervenir dans les différences existant entre nos résultats et ceux de certains, qui tiennent compte dans leurs statistiques, comme traduisant une infection toxoplasmique, des positivités à des dilutions égales ou même inférieures à 1/4. Nous n'avons en effet pas examiné nos sérums à une dilution inférieure à 1/10.

En ce qui concerne les résultats positifs d'examens directs, peut-être ici aussi convient-il, dans certains cas, de faire quelques réserves. En effet, il existe assez fréquemment, dans les muscles et parfois dans les viscères de plusieurs espèces de rongeurs et insectivores, avec une fréquence relativement élevée, des germes très difficilement distinguables, souvent même impossibles à séparer, des toxoplasmes. Il s'agit de protozoaires voisins sans doute des „sarcosporidies“<sup>\*</sup>) et que nous-mêmes étiquetons, dans une position d'attente, „Sarcosporidies à petites spores“. Ces parasites, déjà signalés par d'autres (par exemple Krampitz (1957) et Šebek (1962)), ont été ainsi retrouvés par nous histologiquement parfois avec des taux de fréquence atteignant 8% des animaux, par exemple chez *Clethrionomys glareolus*.

---

\* Selon des travaux très récents, les „sarcosporidies“, et sans doute les germes auxquels nous faisons allusion, ne seraient que des formes évolutives de coccidies du genre *Isospora*, au même titre que les *Toxoplasma*.

Un problème analogue se pose à propos de résultats positifs d'examens directs sur frottis de cerveau de Microtidés. Chez cette famille de rongeurs en effet, il existe avec une relative fréquence, dans cet organe, des protozoaires très difficilement différenciables, par cette méthode d'examen, d'authentiques toxoplasmes. Il s'agit des *Frenkelia*, connus également sous le nom de „M-organisms.“ D'ailleurs, ces germes ont d'abord été considérés comme des toxoplasmes, sous le nom de *Toxoplasma microti*. Nous-mêmes avons observé des *Frenkelia* dans le cerveau de divers Microtidés avec une fréquence pouvant atteindre près de 50% des animaux examinés dans certains biotopes.

# ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСОПЛАЗМОЗА У ДИКИХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ВО ФРАНЦИИ

Ж. М. Добы, Г. Демонт, Ж. К. Бокурны и Г. Т. Акиншина

**Резюме.** Иммунологическое изучение токсоплазмоза проводили с помощью пробы путем лизиса. Авторами обследовано около 2000 диких мелких млекопитающих, относящихся к 48 видам из 32 французских районов и из Португалии. Получено восемь сильно положительных результатов международных, т. е. в соответствии с концентрацией выше чем 300 единиц/мл крови, у хищников семейства Mustelidae (6 из 19) и у крыс (2 из 44). Одинадцать результатов с пониженным положительным уровнем получено у разных насекомоядных, грызунов, зайцевидных и рукокрылых. Результаты подтверждают, что токсоплазмоз является подлинным природно-очаговым зоонозом. За исключением Mustelidae процент положительных реакций гораздо ниже чем у результатов, полученных другими авторами, особенно из стран средней и восточной Европы. Эти различия объясняют разными гипотезами.

## BIBLIOGRAPHIE

- AKINCHINA G. T., DOBY J. M., Première observation microscopique directe de *Toxoplasma gondii* Nicolle et Manceau 1909 (Protozoaire *Toxoplasma*) chez un Chiroptère, *Myotis bechsteini* (Leisler). C. R. Acad. Sci., Paris, 266: 2431, 1968.
- AWAD F. I., LAINSON R., A note on the serology of sarcosporidiosis and toxoplasmosis. J. Clin. Path. 7: 152—156, 1954.
- BEATTIE C. P., The epidemiology of toxoplasmosis. In SIIM, 1959.
- BEVERLEY J. K., BEATTIE C. P., ROSEMAN C. J., Human toxoplasma infection. J. Hyg. 52: 37—46, 1954.
- ČATÁR G., Studies on toxoplasmosis as regards its natural focalities in Slovakia. Folia parasit. (Praha) 19: 253—256, 1972.
- CHRISTIANSEN M., Toxoplasmosis hos harer i Danmark. Medlemsbl. danske Dyrslægtforen. 31: 93—106, 1948.
- COOK J., POPE T. H., SCOTT W., Toxoplasma in Queensland. III. A preliminary survey of animal hosts. Austral. J. exper. Biol. med. Sci. 37: 253, 1959.
- DOBY J. M., BEAUCOURNU J. C., Absence de réactions croisées en immunofluorescence indirecte entre sérum de porteurs de *Isospora hominis* et antigène *Toxoplasma*. Bull. Soc. Path. exot. 65: 404—408, 1972.
- , JEANNES A., RAULT B., Systematical research of toxoplasmosis in the brain of small mammals by a histological method. Čs. Parazit. 12: 133—144, 1965.
- DUNAEVA Z. V., ZASUKHIN D. N., Contribution to the study of natural toxoplasmosis foci. Med. parazit. Moscow 30: 84—86, 1961 (en russe).
- DYNAMOWSKA Z., KOZLOWSKA D., WLODEK Z., Próby zakażenia toksoplazmą białych szczurów oraz poszukiwanie toksoplazmy u dzikich szczurów. Med. dosw. Mikrobiol. 7: 71—75, 1955.
- ELIAS M. I., Beiträge zur Epidemiologie der Toxoplasmose. Z. Tropenmed. Parasit. 17: 87—99, 1966.
- EYLES DON E., Toxoplasma in the Norway rat. J. Parasitol. 38: 226—229, 1952.
- , GIBSON C. L., COLEMAN N., SMITH C. S., JUMPER J. R., JONES F. E., The prevalence of toxoplasmosis in wild and domesticated animals of the Memphis region. Amer. J. trop. Med. Hyg. 8: 505—510, 1959.
- GALUZO I. G., LEVIT A. V., Toxoplasma of wild animals of Kazakhstan. Tr. Inst. Zool., Alma-Ata 16: 3—8, 1962 (en russe).
- , VYSOKOVA L. A., KRIVKOVA A. M., Toxoplasmosis in bats. Toxoplasmosis of animals, Acad. Sci. Kaz. edr., Alma-Ata, p. 218, 1965 (en russe).
- GIBB D. G. A., KAKULAS B. A., PERRET D. H., JENKYN D. J., Toxoplasmosis in the rotnnest quokka (*Setonix brachyurus*): Austr.

- J. exp. Biol. med. Sci.; 665—672, 1966.
- GOLOCHIN R. V., Toxoplasmose spontanée et expérimentale chez les rongeurs. Acta veterin., Belgrade, 10: 139—150, 1960, (en yougoslave).
- GRIGORASHCHENKO A. E., YAROTSKAYA N. E., KASHIROVA A. K., Matériel sur l'étude des rongeurs synanthropes atteints de toxoplasmose dans la ville d'Odessa. Rapport de la Conférence scientifique et pratique de la République d'Ukraine, sur les problèmes de toxoplasmose, 25—27 Avril, Odessa, p. 22, 1963 (en russe).
- GRÖNROSS P., SALMINEN A., Toxoplasmosis in Norway rats in Helsinki. Ann. Med. exp. Biol. Fenniae 33: 141—144, 1955.
- HAVLÍK O., HÜBNER J., Serologický průkaz toxoplasmózy u některých domácích i volně žijících zvířat. Čs. Epidem. 7: 396—402, 1958.
- , —, Výsledky serologického vyšetřování na toxoplasmózu domácích i volně žijících zvířat v ČSSR. Čs. Epidem. 9: 391—397, 1960.
- HÜBNER J., UHLÍKOVÁ M., The isolation of *Toxoplasma gondii* from the salivary gland of *Clethrionomys glareolus*. Folia parasit. (Praha) 17: 126, 1970.
- IZUTANI T., Toxoplasma antibody maintained by house rats, cattle, horses, fowls and sparrows. J. Osaka City med. Center 7: 181—192, 1958 (en japonais).
- JACOBS L., The specificity of the dye-test in SIIM, 1959.
- JEANNES A., Contribution à l'étude des protozoaires parasites du cerveau et du tissu musculaire des petits mammifères sauvages et rôle éventuel de ceux-ci comme réservoirs de germes pour certaines anthroponoses, toxoplasmose notamment. Thèse Doctorat Pharmacie, Rennes, 1968.
- JÍROVEC O., Recherches sur la toxoplasmose en Tchécoslovaquie, Pediatria, Moscou 40: 24—29, 1961 (en russe).
- KONOVALOVA S. I., A propos des foyers naturels de toxoplasmose et sur le rôle des animaux domestiques dans son épidémiologie dans la région de Omsk. C. R. de la Conférence scientifique pour les 20 ans de l'Institut scientifique I. E. M. T., Tchita, p. 47—48, 1961 (en russe).
- , Toxoplasmose chez l'homme et les animaux domestiques à Omsk. Vème Conférence sur les maladies à foyer naturel et les questions de parasitologie dans les républiques d'Asie moyenne et du Kazakhstan, 24—30 sept. 1962 Frouse, 1964 (en russe).
- KRAMPIŤZ H. E., Ricerche sugli emoparassiti dei micromammiferi selvatici della Sicilia. Riv. di Parassit., 18, 219, 1957.
- KRASNOVA A. M., Etudes sur les infections par toxoplasmes chez les mammifères sauvages de la région de Saratov et de quelques zones limitrophes. Tr. Saratov. med. zoovet. Inst. 12: 289—293, 1964, (en russe).
- LAINSON R., The demonstration of toxoplasma in animals with particular reference to members of the Mustelidae. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 51: 111—117, 1957.
- LAVEN H., WESTPHAL A., Die Übertragung von *Toxoplasma gondii* unter besonderer Berücksichtigung des Blutes als Infektionsquelle. Z. Tropenmed. Parasit. 2: 221—235, 1950.
- LEVIT A. V., Isolement d'une souche de Toxoplasmes *Toxoplasma gondii* Nicolle et Manceaux, 1909, à partir de la belette (*Mustela eversmanni*), Tr. Inst. Zool. AN Kaz. SSR Alma-Ata, 14: 187—188, 1960 (en russe).
- , GUBENKO L. N., VUSTINA U. D., Toxoplasmosis in insectivorous. In: Toksoplazmoz zhivotnykh, Nauka, Alma-Ata, 213—217, 1965 (en russe).
- , VUSTINA U. D., GUBENKO L. N., Toxoplasmosis in rodents. In: Toksoplazmoz zhivotnykh, Nauka, Alma-Ata, 238—273, 1965 (en russe).
- , —, FADEEV V. A., Toxoplasmosis in Lagomorpha. In: Toksoplazmoz zhivotnykh, Nauka, Alma-Ata, 224—237, 1965 (en russe).
- MELNIK M. N., BOGDANIOUK L. C., BRATISLAVIEC N. F., CHERSTIOUK R. A., KOVBACIOUK R. F., TCHERNOUSKO V. V., Quelques données sur le rôle des rongeurs synanthropes dans la distribution de la toxoplasmose. Région de Kiev et Odessa. Comptes rendus du Symposium sur la Toxoplasmose, Moscou, Acad. Med. U.R.S.S. edr. p. 200, 1971 (en russe).
- MERCIER P., PANGALOS G. E., Studio sperimentale ed epidemiologico sulla toxoplasmosi in Grecia. Minerva med. 47: 876—880, 1956.
- MILLER L. T., FELDMAN H. A., Incidence of antibodies for *Toxoplasma* among various animal species. J. Infect. Dis. 92: 118—120, 1953.
- MORRIS J. A., AULISIO C. G., McCOWN J. M., Serological evidence of toxoplasmosis in animals. J. Infect. Dis. 98: 52—54, 1956.
- MOSCOVICI C., Ricerche immunologiche sui toxoplasmi ed i sarcosporidi. Rendiconti Inst. sup. di Sanita, Roma, 17: 1002—1006, 1954.
- MÜHLPFORDT H., Das Verhalten Sarcosporidien-infizierter Tiere in Sero-Farbstest auf Toxoplasmose nach Sabin-Feldman. Z. Tropenmed. Parasit. 3: 205—215, 1951.
- ORIO J., DEPOUX R., RAVISSE P., CASSARD H., Contribution à l'étude de la toxoplasmose en Afrique équatoriale. Enquête dans la population animale. Bull. Soc. Path. exot. 51: 607—615, 1958.
- POKORNÝ B., Příspěvek k poznání toxoplasmózy polní zvěře. Čs. Parasit. 2: 157—160, 1955.
- , HÜBNER J., ZÁSTĚRA M., Izolace kmenů *Toxoplasma gondii* z některých domácích i volně žijících zvířat. Čs. Epidem. 10: 323—329, 1961.



- POLMAN A., Toxoplasmosis in Netherlands. Trop. Geogr. Med., Amsterdam 11: 13—23, 1959.
- RAŠIN K., Toxoplasmosa zajíce (*Lepus europaeus* Pall.). Věst. Čs. zool. Společn. 12: 157—179, 1948.
- ŠEBEK Z., Sarcocystis a M organismy u hmyzožravců a hlodavců. Zool. listy 11: 355—III, 1962.
- SIIM J. C., Human toxoplasmosis. Proceed. of the Conference on clinical aspects and diagnostic problems of toxoplasmosis in pediatrics. Rev. Copenhagen, Munksgaard odr. 1959.
- SŁOWAKIEWICZ E., DYMON M., PAWLIK B., The role of wild rodents in the expansion of *Toxoplasma gondii*. Wiadomości Parazyt. 18: 229—236, 1972 (en polonais).
- UMINSKI J., STROCZYNSKA M., Ogniskowe badania w kierunku toksoplazmozy i włośnicy na terenie powiatu ilawskiego. Wiad. Parazyt. 10: 377—380, 1964.
- , TOŚ-LUTY S., STROCZYNSKA M., BAZYLSKA D., Badania rezerwuaru zwierzęcego toksoplazmozy przy pomocy odczynu wiązania dopełniacza. Wiad. Parazyt. 7: 413—415, 1961.
- VARELA G., ROCH E., CURBELO A., Exploración serológica de toxoplasmosis. Estudio de 6569 sueros sanguíneos. Rev. Inst. Salubr. Enferm. trop. Mexico, 19: 259—263, 1959.
- WERNER H., ASPÖCK H., JANITSCHKE K., Serologische Untersuchungen über die Verbreitung von *Toxoplasma gondii* unter Wildtieren (Mammalia) in Österreich. Zentrbl. Bakt. I. Orig. Ser. A, 224: 257, 1973.
- WESTPHAL, 1952, in BEATTIE, 1959.
- ZÁSTĚRA M., HÜBNER J., POKORNÝ J., Natural foci of toxoplasmosis and the epidemiological importance of some species of domestic and wild living animals in Czechoslovakia. Symposium on theoretical questions of natural foci of diseases, Prague, November 1963, Prel. papers, 2: 161—171, 1963.

Arrivé le 27 février 1974.

J. M. D., Parasitologie et Zoologie appliquée,  
U. E. R. médicales et pharmaceutiques,  
Avenue du Prof. L. Bernard,  
35043 C — Rennes, France