

L'ANTIGÉNICITÉ DE LA TOXINE STAPHYLOCOCCIQUE *DELTA*

M. PLOMMET et C. BOUILLANNE

*Station de Pathologie de la Reproduction,
Centre de Recherches vétérinaires et zootechniques, 37 - Nouzilly
Station centrale de Recherches laitières,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique*

L'antigénicité de la toxine staphylococcique delta est une question controversée. Les uns admettent son antigénicité en utilisant des techniques sérologiques d'inhibition de l'hémolyse et de précipitation en milieu gélosé ; les autres, en ne parlant pas de ces techniques d'usage courant dans l'étude des toxines hémolytiques font comme si elle n'était pas antigénique (JACKSON et LITTLE, 1958 a ; YOSHIDA, 1963).

Les arguments tirés des épreuves de protection de l'animal à l'inoculation de toxine (McLFOD, 1963) sont de peu de valeur dans l'état actuel, en raison de l'emploi de toxine brute.

La précipitation en milieu gélosé a été utilisée par KAYSER et RAYNAUD (1965), par HALLANDER et BENGSSON (1966) et discutée par GLADSTONE et YOSHIDA (1967). En effet, quand en utilisant l'une des techniques de précipitation en gélose, on place d'une part de la toxine delta brute ou purifiée selon JACKSON et LITTLE (1958 b) ou selon YOSHIDA (1963) et d'autre part un sérum anti-delta on observe une ou plusieurs lignes de précipitation. Nous avons constaté, à l'occasion des recherches sur l'infection de la brebis (PLOMMET et LEGALL, 1963) que tous les sérums d'animaux non vaccinés, et de toutes les espèces testées (mouton, bovin, lapin, homme) donnaient une ou plusieurs lignes avec la toxine purifiée. L'analyse immuno-électrophorétique (AIE) faite d'abord par GLEYS (communication personnelle, 1962) sur sérum de rat germ-free, puis reprise au laboratoire sur sérum de brebis et d'homme, devait révéler que la ligne observée se situe dans la zone des globulines α , et qu'elle est colorable par le Noir Soudan. Grâce à cette coloration, nous pouvons retrouver facilement la ou les (2 ou 3) lignes correspondantes après électrophorèse de la toxine, et révélation de celle-ci par hémolyse des globules humains placés sur la plaque d'électrophorèse, selon la technique de STOCK et URIEL (1961). La correspondance de mobilité de l'hémolysine et de la substance responsable de la précipitation suggère l'identité des deux substances, et la coloration par le Noir Soudan suggère que la toxine est une lipoprotéine-lipase. GLADSTONE et YOSHIDA (1967) ont observé que la limite de l'hémolyse ne correspondait pas avec la ligne de précipitation, et ont expliqué cette observation soit par la présence d'un contaminant dans la toxine, soit par la non-neutralisation de la toxine par le sérum. Cette dernière hypothèse paraît assez vraisemblable, si comme nous le pensons, il n'y a pas d'anticorps dans le sérum. Par ailleurs, nous n'avons pas pu, jusqu'à maintenant, mettre en évidence une ligne qui puisse être attribuée à un système delta/anti-delta, identifiable par les AIE successives du sérum et de la toxine, même dans le sérum de lapin hyper-immunisé.

Les arguments tirés de l'inhibition de l'hémolyse (neutralisation) sont difficiles en raison de l'importance de l'inhibition non spécifique due à diverses fractions du sérum (JACKSON et LITTLE, 1958 a ; GLADSTONE et YOSHIDA, 1967). Il faut soit opérer par différence entre avant et après vaccina-

tion, en postulant que la vaccination ne modifie pas notablement l'inhibition non spécifique, soit éliminer les facteurs responsables de cette inhibition. On pourrait par exemple éliminer les lipoprotéines, comme dans le dosage de l'antistreptolysine O du sérum (BADIN, 1966), mais il est peu probable que ce soit suffisant dans le cas de la toxine delta. Nous avons préféré utiliser les γ -globulines pures séparées des autres constituants du sérum.

Dans un premier essai, basé sur la différence d'inhibition entre avant et après vaccination, 4 lapins ont reçu 2 injections de 1 000 U de toxine delta brute (JACKSON et LITTLE, 1958 a) avec adjuvant complet de Freund, à 15 jours d'intervalle ; 4 autres lapins ont reçu 3 injections de 1 000 U de toxine purifiée sur hydroxylapatite, avec adjuvant, à 15 et 45 jours. L'activité antihémolytique du sérum a augmenté dans ces deux groupes respectivement de 1,7 et 2,1. Compte tenu du postulat sur l'inhibition non spécifique, cette augmentation est trop faible pour être attribuée avec certitude à la présence d'anticorps.

Dans un deuxième essai, 2 lapins ont reçu 5 injections de 2 000 U de toxine brute, fixée sur hydroxylapatite en tampon 0,1 M et lavée dans ce tampon, à 8 et 15 jours d'intervalle ; 4 lapins neufs servaient de témoin. Les γ -globulines ont été extraites par fixation des autres protéines du sérum sur sédiment de DEAE-cellulose à 0,005 M selon la méthode indiquée par SCHULTZE et SCHWICK (in GRABAR et BURTIN, 1960) puis lyophilisées. L'activité anti-hémolytique a ensuite été comparée sur la base de la concentration protéique mesurée au Folin-Ciocalteu. Pour une même activité, il a fallu 1,3 et 8 mg/ml avec le sérum des lapins vaccinés, contre 1 mg et 0,24 mg/ml (3 sérums) avec le sérum des lapins neufs. Ce résultat paradoxal n'est pas facilement explicable, bien que plusieurs hypothèses puissent être envisagées. Il est en tous cas contraire à l'hypothèse d'une activité antigénique de la toxine delta.

Dans les conditions de vaccination que nous avons utilisées, nous n'avons pas pu mettre en évidence dans le sérum des animaux vaccinés une activité anti-hémolytique ou précipitante attribuable à un anticorps anti-delta, et jusqu'à preuve du contraire, nous considérons la toxine delta comme non-antigénique.

Reçu pour publication en juin 1967.

SUMMARY

ANTIGENICITY OF THE STAPHYLOCOCCAL DELTA TOXIN

On immunoelectrophoretic plates of serum of rabbit, sheep, cow or human, one or several lines of precipitation were detected with purified delta toxin. These lines were located at the α -globulin zone and could be colored with sudan black. No lines could be detected in the γ -globulin zone, even with immunized rabbits serums.

Inhibition of hemolytic action of purified toxin by total rabbit serum was increased on average by immunization of 1.7 to 2.1 times, but inhibition due to the γ -globulin fraction was decreased. Thus, antigenicity of delta toxin is unlikely.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BADIN J., 1966. Les facteurs sériques de l'inhibition de la streptolysine O. Part respective de l'antistreptolysine et de la β -lipoprotéine dans le titre de l'inhibition du sérum normal. *Path. Biol.*, **14**, 1065-1070.
- GRABAR P., BURTIN P., 1960. *Analyse immuno-électrophorétique. Ses applications aux liquides biologiques humains*. Masson, Paris.
- GLADSTONE G. P., YOSHIDA A., 1967. The cytopathic action of purified staphylococcal δ -hemolysin. *Brit. J. Exp. Path.*, **48**, 11-19.

- HALLANDER H., BENGTSSON S., 1966. Studies on delta hemolysin. The staphylococcal factor toxic to human cells. *IX^e Congr. Internat. Microbiol.*, Moscou.
- JACKSON A. W., LITTLE R. M., 1958 a. Staphylococcal toxins. Factors affecting hemolysis by δ -lysin. *Canad. J. Microbiol.*, **4**, 435-444.
- JACKSON A. W., LITTLE R. M., 1958 b. Staphylococcal toxins. Partial purification and some properties of δ -lysin. *Canad. J. Microbiol.*, **4**, 453-461.
- KAYSER A., RAYNAUD M., 1965. Étude d'une deuxième hémolysine, distincte de l'hémolysine α , présente dans les filtrats de culture de la souche Wood 46 de *Staphylococcus aureus* (hémolysine G ou δ). *Ann. Inst. Pasteur*, **108**, 215-233.
- MCLEOD J. W., 1963. Thermostable staphylococcal toxin. *J. Path. Bact.*, **86**, 35-53.
- PLOMMET M., BOUILLANNE C., 1966. Production des hémolysines staphylococciques delta et gamma. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **6**, 529-532.
- PLOMMET M., LEGALL A., 1963. Mammité staphylococcique de la brebis. Recherches sur l'immunité antitoxique et antimicrobienne. *Ann. Inst. Pasteur*, **104**, 779-796.
- STOCK A. H., URIEL J., 1961. Electrophoretic mobility and detection of hæmolytic activity of streptolysins O and S in agar-gel. *Nature (London)*, **192**, 435-436.
- YOSHIDA A., 1963. Staphylococcal δ -hemolysin. Purification and chemical properties. *Biochim. Biophys. Acta*, **71**, 544-553.
-