

**Activité
glutamate deshydrogénase Nadp⁺
d'une fraction
antigénique immunogénique
de *Trypanosoma cruzi*⁽¹⁾**

Frédérique BRENIÈRE⁽²⁾, Michel TIBAYRENC⁽³⁾

Résumé

*Les auteurs mettent en évidence une forte activité GDH Nadp⁺ chez un arc cathodique précipitant (immunoélectrophorèse) de *Trypanosoma cruzi*, réagissant avec les sérums de certains patients chagasiques chroniques.*

Mots-clés : *Trypanosoma cruzi* — Glutamate deshydrogénase Nadp⁺ — Antigène cathodique immunogénique — Immunoélectrophorèse.

Summary

A GLUTAMATE DESHYDROGENASE NADP⁺ ACTIVITY IN AN ANTIGENIC IMMUNOGENIC FRACTION OF *TRYPANOSOMA CRUZI*. *The authors show a strong GDH Nadp⁺ activity in a precipitating cathodic antigen (immuno-electrophoresis) of *Trypanosoma cruzi*, which reacts with the sera of some chronic chagasic patients.*

Key words : *Trypanosoma cruzi* — Glutamate deshydrogenase Nadp⁺ — Cathodic immunogenic antigen — Immuno-electrophoresis.

Introduction

Dans un travail récent (Tibayrenc, 1982), nous avons émis l'hypothèse que l'enzyme glutamate deshydrogénase Nadp⁺ de *Trypanosoma cruzi* était susceptible de présenter des propriétés antigéniques intéressantes, et ce pour les raisons suivantes :

- très forte activité (bien visible en électrophorèse sur acétate de cellulose) ;
- génétiquement monomorphe chez toutes les souches de *T. cruzi*, et donc ne semblant pas pré-

senter de variations de structure d'une souche à l'autre (Tibayrenc *et al.*, 1982) ;
— fort poids moléculaire (Walter et Ebert, 1979).

Des sérums de patients chagasiques testés en immunoélectrophorèse contre un antigène de formes épimastigotes révèlent de nombreux arcs de précipitation (Brenière, 1982). Dans cette étude, nous montrons qu'un arc cathodique présente une forte activité GDH Nadp⁺. Cet arc cathodique correspond à un antigène immunogénique puisqu'il est mis en évidence par des anticorps présents dans les sérums de certains patients chagasiques.

(1) Étude réalisée dans le cadre de l'accord signé entre l'Institut bolivien de biologie d'altitude (IBBA) et l'O.R.S.T.O.M.

(2) IBBA, Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia.

(3) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M., IBBA, même adresse.

Matériel et méthodes

La préparation de l'antigène est indiquée dans Brenière (1982). Cependant, en vue de respecter l'activité enzymatique, l'antigène n'a pas été passé à la X-press, et a été conservé à -70°C jusqu'à emploi. De plus, il a été concentré trois fois sur cellule Amicon montée d'une membrane filtrante Diaflo UM 10.

L'immunoélectrophorèse a été conduite selon la méthode décrite par Afchain (1976), avec les modifications suivantes : migration réduite à 1 h 30 suivie d'une diffusion à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant 15 h ; lavage des plaques pendant une journée en changeant trois fois le bain.

La révélation enzymatique a utilisé la solution décrite par Tibayrenc *et al.* (1983), en remplaçant l'agarose à 1,2 % par de l'eau distillée. En vue d'éliminer des activités non spécifiques, les plaques ont été testées avec la même solution diminuée du substrat spécifique de l'enzyme (acide glutamique).

Résultats et discussion

Parmi les 16 sérums de patients à sérologie chagassique positive (Brenière, 1982), 2 ont présenté en immunoélectrophorèse un arc de précipitation cathodique. Cet arc s'est coloré en quelques minutes avec la réaction spécifique GDH Nadp+ (photo 1). La solution de révélation sans le substrat spécifique de l'enzyme n'a pas donné de coloration.

Cet antigène cathodique peut être le composant cathodique majeur décrit par Marcipar *et al.* (1982). L'antigène révélé par son activité GDH peut être l'enzyme GDH elle-même, ou un composé antigénique auquel elle serait fortement liée.

En ce qui concerne la spécificité éventuelle de cet antigène, dans la mesure où il correspondrait à l'enzyme elle-même, on peut noter que l'enzyme GDH Nadp+ apparaît en électrophorèse monomorphe chez toutes les souches de *T. cruzi* (Tibayrenc *et al.*, 1982), et différente des GDH Nadp+ de *Trypanosoma cruzi marenkellei*, *Trypanosoma rangeli* (Tibayrenc et Le Ray, en préparation) et *Leishmania mexicana* (Tibayrenc, données non

publiées). Si l'antigène est l'enzyme elle-même, le fait de connaître sa nature biochimique devrait grandement faciliter la purification de cet antigène. Cette purification peut avoir les applications suivantes :

- étude physiologique de cet antigène dans les infections humaines ou animales ;
- amélioration du diagnostic en phase aiguë ou chronique de la maladie ;
- essais vaccinaux.

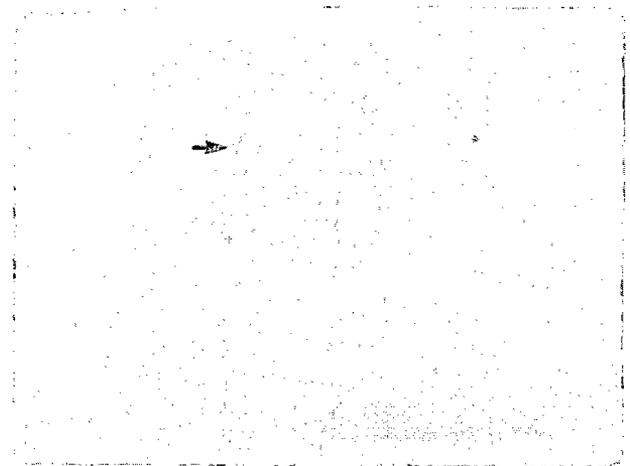


PHOTO 1. — Immunoélectrophorèse avec sérum de patient chagassique chronique, montrant un arc de précipitation cathodique coloré par l'activité glutamate deshydrogénase Nadp+

Conclusion

Le fait d'avoir montré l'activité enzymatique d'un antigène immunogénique de *T. cruzi* devrait faciliter la purification de cet antigène : en effet, ceci permet d'utiliser la réaction spécifique enzyme-substrat pour tenter de purifier cet antigène. Des essais sont en cours à l'IBBA pour chercher d'autres activités enzymatiques chez des antigènes de *T. cruzi* ou d'autres parasites apparentés.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M., le 4 mars 1983.

BIBLIOGRAPHIE

AFCHAIN (D.), 1976. — Le caractère antigénique des Trypanosomatidae hétéroxènes, *Trypanosoma (T.) b. gambiense* et *Leishmania donovani*. Thèse Sciences, Lille.

BRENIÈRE (F.), 1982. — Infection humaine par *Trypano-*

soma cruzi (maladie de Chagas) en Bolivie à différentes altitudes : réponse immune humorale. Thèse 3^e cycle Sciences, Lille.

MARCI PAR (A. J.), LENTWOJT (E.), SEGARD (E.),

Antigène immunogénique de T. Cruzi à activité GD Nadp⁺

- AFCHAIN (D.), FRUIT (J.) et CAPRON (A.), 1982. — Peanut agglutinin affinity chromatography of *Trypanosoma cruzi* glycoproteins. *Parasite Immunology*, 4 : 109-115.
- TIBAYRENC (M.), 1982. — Considérations sur les propriétés immunologiques des enzymes de parasites (en particulier *Trypanosoma cruzi*) et sur leurs applications possibles. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd., Parasitol.*, vol. XX, n° 4 : 319-320.
- TIBAYRENC (M.), ECHALAR (L.), BRÉNIÈRE (F.), LEMESRE (J. L.), BARNABÉ (C.) et DESJEUX (P.), 1982. — Sur le statut taxonomique et médical des souches isoenzymatiques de *Trypanosoma cruzi* : considérations sur la valeur systématique et immunogénique des différentes isoenzymes. *C. R. Acad. Sci. Paris* (sous presse).
- TIBAYRENC (M.), ECHALAR (L.), LE PONT (F.) et DESJEUX (P.), 1983. — Présence en Bolivie de sept nouveaux variants isoenzymatiques de *Trypanosoma cruzi*. Considérations taxonomiques et épidémiologiques. Discussion sur la valeur antigénique potentielle de certaines isoenzymes. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XXI, n° 1 : sous presse.
- WALTER (R. D.) et EBERT (E.), 1979. — Evidence for NADH— and NADPH—linked glutamate deshydrogenases in *Trypanosoma cruzi*. *J. Protozool.*, 26, 4 : 653-656.