

40^e année

N° 1

Janvier 1971

Abonnement 18 F

Le numéro 2,50 F

BULLETIN MENSUEL

DE LA

SOCIÉTÉ LINNÉENNE DE LYON

FONDEE EN 1822

RECONNUE D'UTILITE PUBLIQUE PAR DECRET DU 9 AOUT 1937

des SOCIÉTÉS BOTANIQUE DE LYON, D'ANTHROPOLOGIE ET DE BIOLOGIE DE LYON
REUNIES

et de leurs GROUPES REGIONAUX : ROANNE, VALENCE, etc

Siège social et Secrétariat général : 33, rue Bossuet, Lyon (6^e)

La partie administrative se trouve au centre de ce Bulletin.

**UTILISATION DE LA TECHNIQUE D'IMMUNISATION
PAR VOIE SOUS-CLAVICULAIRE
DANS L'ETUDE IMMUNOELECTROPHORETIQUE
DES CHAMPIGNONS SUPERIEURS**

par A. CAPELLANO et J.-C. LÉGER.

Résumé : Intérêt de cette technique appliquée aux Champignons supérieurs en vue d'obtenir des hyperimmunsérums dirigés contre deux espèces du genre *Peniophora* et une espèce de Gastéromycète : *Langermania gigantea* (Batsch. ex Pers.) Rostkov.

A notre connaissance aucune étude immunologique portant sur les Champignons supérieurs n'a fait appel jusqu'ici aux injections sous-claviculaires. Cette technique de l'Institut Pasteur de Paris nous a été personnellement communiquée par S. ANDRIEU de la Faculté de Médecine de Lille ; elle présente le grand avantage de n'utiliser que des quantités faibles d'antigènes. Chez les Champignons supérieurs se pose le problème de l'obtention de quantités suffisantes d'antigènes soit par difficulté de récoltes abondantes de carpophores d'une même espèce (Gastéromycètes), soit lenteur de croissance du mycélium et faible rendement en antigène lorsque des broyats de culture sont injectés (espèces du genre *Peniophora*).

Nous avons jugé particulièrement intéressant d'appliquer cette technique à notre matériel aux fins d'obtention de sérums ayant de bonnes qualités analytiques, et ce sans utiliser des quantités trop importantes d'antigènes.

Matériel et techniques :

— Espèces étudiées :

* *Peniophora cinerea* (Fr.), souche LY 4 584.

* *Peniophora polygonia* (Pers. ex Fr.) Bourd. et Galz., souche LY 8. Ces deux espèces sont cultivées pendant un mois, sur milieu de Hagem liquide, à température de laboratoire ;

* *Langermania gigantea* (Batsch. ex Pers.) Rostkov.

— Préparation des antigènes : la méthode d'obtention des antigènes cellulaires et de milieu de culture à partir d'espèces de *Peniophora* a été décrite antérieurement par l'un de nous (1) ; nous exposons brièvement l'extraction des antigènes à partir de carpophores de Gastéromycètes en insistant sur les modalités qui lui sont particulières : broyage initial des carpophores par congélations et décongélations successives (5 fois), suivi d'une homogénéisation à + 5°C durant 3 minutes (broyeur à couteaux). Une première lyophilisation permet d'obtenir un antigène brut à partir duquel est préparé l'antigène cellulaire par broyage à sec en présence de poudre de verre ; deux centrifugations (10 000 puis 35 000 g) permettent de recueillir un surnageant mis en dialyse 48 heures contre de l'eau distillée puis lyophilisé.

Le rendement en antigène cellulaire (poids d'antigène cellulaire/poids d'antigène brut) est d'environ 10 % pour les trois espèces étudiées ; le rapport poids d'antigène brut sur poids de carophore frais de *Langermania gigantea* est du même ordre de grandeur.

— Immunisation : les doses préconisées par l'Institut Pasteur (2 mg par injection) sont légèrement augmentées par suite de l'utilisation d'antigènes non purifiés. On pratique une injection hebdomadaire de 6 mg, l'antigène étant dissous dans 0,5 ml d'eau distillée stérile puis homogénéisé à 0,5 ml d'adjuvant de Freund complet ; l'immunisation est poursuivie jusqu'à ce que le nombre des arcs révélés en immunoélectrophorèse n'augmente plus (3 mois).

— Techniques immunoélectrophorétiques : elles sont conduites sur agarose à 0,9 % dans du tampon véronal sodé de pH 8,2 et f.i. 0,1 (lames de 110 x 50 mm) ; la migration dure 5 heures à + 5°C sous une différence de potentiel de 1,8 V/cm. Les sérums, lyophilisés, sont repris par un volume Tv/3 de tampon.

Résultats et commentaires :

Pour chaque espèce, deux animaux ont été immunisés qui ont donné des réponses tout à fait comparables. Les résultats des confrontations homologues et hétérologues entre espèces de *Peniophora* sont exposés dans le tableau T, illustré à l'aide de deux exemples photographiques (photos 1 et 2) ; la technique d'immunisation par voie sous-cutanée n'avait pas permis, lors d'essais précédents, d'obtenir des sérums d'une aussi bonne qualité analytique. En ce qui concerne *Langermania*, le nombre des arcs révélés est de quinze que l'immunisation ait été conduite par injections sous-claviculaires (6 mg d'antigène cellulaire) ou par injections sous-cutanées (20 mg) ; les photos 3 et 4 montrent clairement les résultats très comparables fournis par les immunoélectrophorégrammes en fin d'immunisation (animaux ayant reçu respectivement 240 mg et 72 mg seulement d'antigène cellulaire).

Tableau des réactions croisées entre *Peniophora cinerea* (4584) et *P. polygonia* (L8). En caractères gras : nombre d'arcs révélés contre l'antigène cellulaire ; en caractères maigres : nombre d'arcs révélés contre l'antigène milieu de culture. Les deux antisérums sont dirigés contre l'antigène cellulaire.

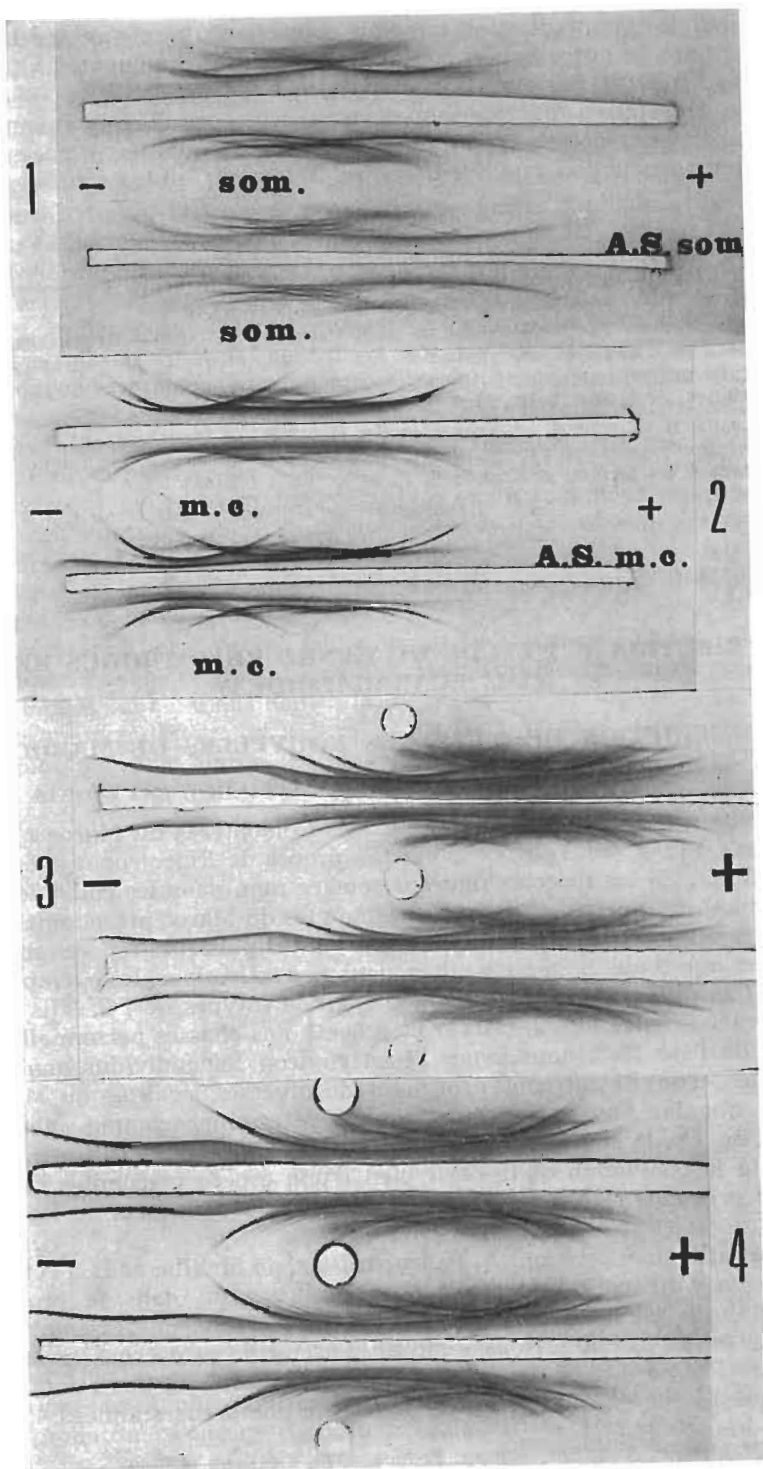
A s /	4 5 8 4	L 8
A g 4 5 8 4	17 10	10 7
L 8	11 9	13 9

Photo 1 : *Peniophora cinerea*, extrait cellulaire (som.) à 20 mg dans 0,1 ml révélé par le sérum anti-cellulaire (A.S. som.).

Photo 2 : *Peniophora cinerea*, antigène milieu de culture (m.c.) à 20 mg dans 0,1 ml révélé par le sérum anti-milieu de culture (A.S.m.c.).

Photo 3 : *Langermania gigantea*, antigène cellulaire à 10 mg dans 0,1 ml contre sérum homologue obtenu par voie sous-cutanée.

Photo 4 : *Langermania gigantea*, idem mais avec sérum obtenu par voie sous-claviculaire.



Ce premier essai, chez les Champignons supérieurs, d'application de la technique d'immunisation par voie sous-claviculaire s'avère, dans le cadre limité de notre expérimentation, tout à fait concluant. La technique de l'Institut Pasteur, largement employée par ailleurs — *Histoplasma capsulatum* (2), *Thermopolyspora polyspora* (3) par exemple — nous a en effet permis d'obtenir des sérums de qualité ne nécessitant pour leur production que des doses relativement faibles d'antigènes.

BIBLIOGRAPHIE

1. LÉGER J.-C., 1968. — L'analyse immunoélectrophorétique est-elle susceptible d'apporter un argument taxinomique dans l'étude du genre *Peniophora* Cke sensu stricto ? Bull. Soc. Mycol. Fr., 84 : 567-575.
2. BIGUET J., TRAN VAN KY P., ANDRIEU S. et VAUCELLE T., 1967. — Premières caractérisations d'activités enzymatiques sur les immunoélectrophorogrammes des extraits antigéniques de *Histoplasma capsulatum*. Conséquences diagnostiques pratiques. Ann. Soc. belge Méd. trop., 47 : 425-434.
3. WALBAUM S., BIGUET J. et TRAN VAN KY P., 1969. — Structure antigénique de *Thermopolyspora polyspora*. Répercussions pratiques sur le diagnostic du « poumon du fermier ». Ann. Inst. Pasteur, 117 : 673-693.

Laboratoire de Mycologie associé au C.N.R.S.,
Faculté des Sciences,
16, quai Claude-Bernard, 69 - Lyon (7^e).

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU GENRE RHIZOTROGUS BERTH. (COL. SCARABAEOIDEA)

4^e NOTE * :

DESCRIPTION DE 2 ESPECES NOUVELLES DU MAROC

par Jacques BARAUD.

Dans son « Catalogue commenté des Coléoptères du Maroc » (1958, fascicule VII, p. 49), L. KOCHER écrit, à propos de *Rhizotrogus subparallelus* Esc. : ...« les insectes figurant sous ce nom dans les collections et provenant de diverses régions géographiques du Maroc présentent entre eux des différences notables ; peut-être y a-t-il plusieurs espèces confondues en une seule... ; en particulier, dans nos collections, les exemplaires des Atlas diffèrent considérablement de nos cotypes de l'O. Nfis »...

Grâce à notre ami J. GALLET et grâce à nos chasses personnelles au cours de l'été 1969, nous avons réuni environ 150 individus, mâles et femelles, d'un *Rhizotrogus* provenant de diverses localités du Moyen-Atlas, que les ouvrages permettent de déterminer comme *subparallelus* Esc. Or, la comparaison avec des cotypes de Tizi-n-Tafilet nous a apporté la conviction qu'il s'agit bien d'une espèce méconnue, comme l'avait pressenti L. KOCHER ; nous la décrivons sous le nom de *Rh. altifrons*.

Par ailleurs, notre ami A. PARDO ALCAÏDE, de Melilla, nous a communiqué un tout petit *Rhizotrogus*, capturé par lui dans la province d'Oujda, qui est lui aussi une espèce incontestable, ne ressemblant à aucune espèce connue. Nous sommes heureux de le décrire ici sous le nom de *Rh. pardoi*, en témoignage de notre amitié et des relations si fructueuses que nous entretenons depuis de nombreuses années.

* Cf. 3^e note. Ann. Soc. Entom. France, 1970, 6 (2), pp. 475-492.