ETUDE DE LA FONCTION BILIAIRE
DANS LE PHÉNOMÈNE DE L'ÉVAGINATION
CHEZ LES CYSTICERQUES DES CESTODES

Par A. DE WAELE

J'ai décrit, en 1933, l'évagination du *Cysticercus pisiformis* et les conditions qui régissent le phénomène (de Waele, 1933) : une première phase, entièrement mécanique, est constituée par l'expulsion du germe au moment où, par la mastication ou par l'action du ferment stomacal, le cysticerque est dégagé de son enveloppe kystique ; une seconde phase, l'évagination du cou et du scolex, nécessite la réalisation d'un milieu dont le pH est supérieur à 6,0 et dont la température est voisine de 37° à 38° C. Cette évagination, irrégulière et lente dans l'eau physiologique, se fait immédiatement en présence de bile : celle-ci possède une action stimulante énergique sur les contractions péristaltiques qui parcourent le manchon du germe. J'ai appris, depuis lors, que cette propriété de la bile avait été constatée aussi par Butning sur *Cysticercus cellulosæ* (Butning, 1927). L'activation semble, dans ce cas, être moins brusque et moins uniforme que chez *Cysticercus pisiformis* ; toutefois, je pense qu'il faut attribuer ces différences au fait que l'auteur s'est servi de bile vésiculaire, sans se préoccuper de la réaction de ce liquide dont le pH peut, on le sait, varier de 7,47 à 5,33.

Chez *Cysticercus pisiformis*, quelques secondes après l'addition de bile, on voit une onde péristaltique très prononcée se propager le long du manchon vers la vésicule (fig. 1, A) : cette contraction a pour résultat d'expulser la partie antérieure du manchon qui était restée invaginée après l'ablation de l'enveloppe kystique (B). L'onde suivante débute à la partie distale de ce manchon (C) ; au moment où elle atteint la vésicule, une nouvelle contraction s'annonce déjà à son extrémité (D). Quelques mouvements de cette nature suffisent pour déclencher l'évagination : le scolex apparaît et, d'un mouvement lent et continu, se dégage entièrement du manchon (E). Dans le jeune Cestode, complètement évaginé, on reconnaît aisément les cinq parties qui composent le cysticerque (F). Des contractions péristaltiques continuent sans arrêt à parcourir le manchon ;

le cou s'allonge et se contracte alternativement, balançant dans tous les sens le scolex, dont le rostellum et les ventouses présentent également des mouvements d'extension et de rétraction répétés.

La constatation de cette propriété stimulante de la bile sur la

FIG. — Seconde phase de l'évagination chez *Cysticercus pisiformis* : après l'expulsion mécanique du germe, par suite de l'ablation de l'enveloppe kystique, le cou et le scolex ne s'évaginent que dans des conditions de milieu bien déterminées. Le phénomène est sommairement décrit dans le texte. V, vésicule ; R, receptaculum ; M, manchon ; C, cou ; S, scolex, $\times 5$.

gaine des cellules musculaires périphériques du parasite était une découverte intéressante ; mais ce qui importait davantage, c'était de découvrir, dans le mélange complexe qui constitue le suc biliaire, l'élément responsable qui permet à la larve du cestode de terminer son cycle évolutif.

La bile renferme des substances spécifiques, les sels et les pigments biliaries, et un grand nombre de substances secondaires dans des proportions très variables : j'en fais suivre la liste dans le but de faciliter la compréhension de mes recherches.

Taurocholate, glycocholate, glycodésoxycholate, etc.

Bilirubine, biliverdine, bilifuscine, etc.

Lécithine, choline.

Cholestérine.

Ferments diastasique et trypsique.

Graisses, acides gras et savons.

Mucine et sels minéraux.

Tel est, abstraction faite de la pancréatine, le mélange qui baigne le cysticerque lorsque, déversé par le pylore dans le duodénum, il se présente devant l'ampoule de Vater. D'autres substances peuvent d'ailleurs augmenter la complexité du mélange : on sait que les sels biliaries sont hydrolysés dans l'intestin avec formation d'acide cholique, d'acide désoxycholique et de glycocole ou de taurine ; que la lécithine est fragmentée ; que les graisses sont saponifiées. Il n'est pas douteux que, grâce à la présence de ferments, si faible soit-elle, ces dislocations moléculaires puissent déjà se produire au sein de la bile même, pendant son séjour dans la vésicule. C'est l'étude du comportement des larves de cestodes dans ces innombrables substances qui fait l'objet de ce travail.

Le matériel employé a été le *Cysticercus pisiformis*, la larve de *Tænia serrata* Goeze, recueillie dans le péritoine, le mésentère et surtout dans le grand épiploön de lapins domestiques. Les expériences ont été effectuées dans les conditions optima de température et de milieu, déterminées au cours de mes recherches antérieures : les cysticerques, prudemment dégagés de leur enveloppe kystique, ayant par conséquent le germe expulsé, ont été plongés dans du liquide de Ringer contenant en dissolution ou en suspension des substances biliaries. Le pH de ces mélanges se trouvait situé entre 6,00 et 7,90, suivant la nature et la quantité du produit dissout ; leur température était de 37°,5.

Origine de la bile. — Avant d'entamer les recherches avec les éléments constituants, il était indispensable d'établir si des suc biliaries, d'origine différente, avaient une influence variable sur l'allure du phénomène de l'évagination. Le cycle évolutif du *Tænia serrata*, ayant son siège exclusivement chez des mammifères, j'ai expérimenté l'action de la bile de différentes espèces, appartenant

à ce groupe d'animaux ; j'ai utilisé de la bile prélevée, de suite après la mort, dans la vésicule du chien, l'hôte définitif, et du lapin, l'hôte intermédiaire, et d'autre part de la bile desséchée provenant de porcs et de bœufs, qui sont des animaux indifférents à l'égard du parasite envisagé. Ces ingrédients ont été dissous dans du liquide de Ringer et les solutions chauffées à 37°,5. Le comportement des cysticerques qui y furent plongés est détaillé dans le tableau suivant ; la durée de l'imprégnation nécessaire au déclenchement de l'évagination est indiquée en secondes.

CONCENTRATION EN CM ³ p. 1000	BILE VÉSICULAIRE FRAICHE DU CHIEN	BILE VÉSICULAIRE FRAICHE DU LAPIN
1.....	5 à 20 sec.	5 à 20 sec.
2.....	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
5.....	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
10.....	<i>Id.</i>	—
20.....	—	<i>Id.</i>

CONCENTRATION EN GR. p. 1000	BILE DESSÉCHÉE DE BŒUF	BILE DESSÉCHÉE DE PORC
0,9.....	5 à 20 sec.	5 à 20 sec.
1,7.....	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
3,3.....	—	<i>Id.</i>
5,0.....	<i>Id.</i>	—
10,0.....	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
20,0.....	<i>Id.</i>	—

Par conséquent, quelle que soit son origine, la bile agit d'une façon identique sur le cysticerque. Dans des solutions, même très diluées, de bile vésiculaire du chien ou du lapin, dans des solutions de bile desséchée de bœuf ou de porc, l'évagination se produit avec une rapidité sensiblement égale. L'activation des mouvements contractiles de la tunique musculaire des larves de cestodes peut être considérée comme immédiate, puisque son effet se constate quelques secondes à peine après l'addition de l'excitant. Cette action,

d'autre part, est persistante ; le scolex ne se réinvagine pas dans une solution de bile.

Ces premières expériences ajoutent un chaînon de plus à nos connaissances sur la seconde migration des cestodes. En effet, l'origine de la bile n'ayant pas d'influence sur l'allure du phénomène, je puis affirmer que le *Cysticercus pisiformis* s'évaginera dans l'intestin de n'importe quel Mammifère qui l'aura avalé. L'identité fonctionnelle des diverses biles, tout au moins en ce qui concerne le phénomène de l'évagination des cysticerques, est une notion nouvelle qui, associée à celle de l'identité fonctionnelle des ferments établie en 1933 (de Waele, 1933), fournit des indications précieuses sur le problème de la spécificité de l'hôte définitif des cestodes.

Les ferments de la bile. — L'action stimulante de la bile globale sur le phénomène de l'évagination étant établie, il importait de déterminer à quel élément constituant était due cette propriété. Les biles d'origines différentes agissant d'une façon identique, on pouvait supposer que le pouvoir excitant était l'attribut d'une ou de plusieurs substances, bien déterminées, présentes dans ces divers liquides. Cependant, avant de rechercher ces éléments, il m'a semblé utile d'essayer l'action de certains constituants dont la nature est moins bien connue.

Certains auteurs admettent la présence dans la bile d'un ferment diastasique (Wittich, 1872) et d'un ferment trypsique (Tschermak, 1902) ; quoi qu'il en soit, il n'est pas douteux que la bile favorise l'action digestive du suc pancréatique. Devant l'impossibilité d'isoler les ferments mêmes, j'ai employé, pour déterminer leur influence, une méthode indirecte ; j'ai notamment repris les essais, décrits dans le chapitre précédent, avec des solutions de bile dans lesquelles ces ferments avaient été détruits par la chaleur. Ces recherches sont consignées dans le tableau suivant :

CONCENTRATION EN GR. p. 1000	BILE DE BŒUF	BILE DE PORC
1.....	5 à 20 sec.	—
2.....	Id.	5 à 20 sec.
5.....	Id.	Id.
10.....	Id.	—

Dans ces expériences, l'évagination a, par conséquent, eu lieu de la même façon que dans la bile entière ; on peut dire que l'allure et la brusquerie du phénomène ne sont guère influencés par l'absence de ferments. D'autre part, cette activation présente le même caractère de persistance et l'on peut constater que, dans une solution de bile bouillie, le scolex ne se réinvagine plus.

Les sels biliaires. Le taurocholate. Le glycocholate. — L'influence directe des ferments étant exclue, il convenait d'entamer les recherches, en vue de déterminer la nature de l'excitant évaginateur, par des expériences avec les éléments spécifiques de la bile. Parmi ceux-ci, les plus importants, et d'ailleurs les mieux connus, sont les sels biliaires ; nos connaissances sur leur constitution chimique et sur les modifications qu'ils subissent dans l'intestin, permettent de réaliser *in vitro* des milieux dont la composition se rapproche du milieu naturel où évolue le parasite.

J'ai commencé par essayer l'action globale de ces sels, en utilisant un mélange renfermant du glycocholate et du taurocholate de soude en parties sensiblement égales : des cysticerques furent plongés dans du liquide de Ringer chauffé à 37°,5 et renfermant 1 ou 2 p. 1000 de ce mélange. Les parasites se sont comportés de la même façon que dans les solutions de bile : augmentation quasi-immédiate de l'intensité et du nombre des ondes péristaltiques du manchon, mêmes modalités dans l'évagination du cou et du scolex, analogie absolue des mouvements subséquents du rostellum et des ventouses. Une imprégnation de 10 à 20 secondes a suffi pour déclencher le phénomène. D'autre part, l'évagination est, comme dans la bile, persistante.

J'ai alors voulu déterminer la part qui revient à chacun des sels biliaires dans le phénomène. Dans ce but, les essais précédents ont été repris avec des solutions de taurocholate et de glycocholate séparément : dans les deux liquides, l'évagination s'est produite d'une manière sensiblement égale. Ces expériences permettent d'affirmer que chacun des sels biliaires indistinctement possède une action activante identique sur le phénomène de l'évagination des cysticerques.

La relation entre le phénomène et la présence de sels biliaires dans le milieu étant établie, il importait de rechercher si la réaction du parasite était fonction de la concentration de ces substances. A cette fin, j'ai préparé des solutions types de taurocholate de soude. En ajoutant un volume bien mesuré de celles-ci à 10 cm³ de liquide de Ringer, chauffé, comme il a été dit, à 37°,5 et contenant des cysticerques, on pouvait réaliser des milieux expérimentaux

renfermant des concentrations exactement connues de substance active. Les essais sont résumés dans le tableau suivant :

CONCENTRATION EN GR. p.1000	DURÉE NÉCESSAIRE DE L'IMPRÉGNATION	REMARQUES
10,0	1 à 2 min.	Teneur maxima en sels biliaires de la bile hépatique
2,0	10 à 20 sec.	
1,0	<i>Id.</i>	
0,1	<i>Id.</i>	
0,05	<i>Id.</i>	Seuil de la réaction
0,01	2 à 5 min.	Ondes péristaltiques plus lentes et moins profondes
0,005	5 à 10 min.	
0,001	30 à 40 min.	
0	3 à 4 heures	Solution de Ringer pure

Abstraction faite de la solution dont la concentration correspond à la teneur maxima en sels biliaires de la bile hépatique et dont l'action est un peu moins brusque, on peut dire que le taurocholate agit sur le cysticerque d'une façon identique à des concentrations très différentes. Toutefois, à une teneur de 5 ctgr. par litre, les ondes péristaltiques se succèdent moins vite et dans des solutions plus faibles encore on voit l'intensité des contractions diminuer de plus en plus : de ce fait, la caractéristique dominante du phénomène, son déclenchement immédiat, s'efface et la durée de l'imprégnation nécessaire pour réaliser l'évagination devient rapidement très longue, pour atteindre 3 à 4 heures en l'absence totale de substance active. Il convient de considérer la concentration minima de 5 ctgr. p. 1.000, pour laquelle l'évagination du cysticerque succède immédiatement à l'imprégnation par le taurocholate, comme le seuil de la réaction.

Ces déterminations étaient déjà effectuées, lorsqu'au cours d'un séjour que je fis en son laboratoire, le professeur Brumpt me signala une note de Malkani (1933). Celui-ci, opérant sur *Cysticercus bovis* et sur *Cysticercus tenuicollis*, déclare que, à 37°, dans le liquide de Ringer-Locke, l'évagination a lieu après 30 à 48 heures de contact ; dans la bile, elle survient plus vite ; elle se ferait moins rapidement dans le glycocholate que dans le taurocholate. Des solutions de cette dernière substance nécessitent une imprégnation de

18 heures à une teneur de 1 p. 100, de 2 heures à 2 p. 100 ; la concentration la plus favorable serait de 5 p. 100.

Le parasite, dans son milieu naturel, ne rencontrant guère de milieux si concentrés, je n'avais pas cru utile de les expérimenter. C'est à la suite des expériences de Malkani que j'ai éprouvé le comportement du *Cysticercus pisiformis* dans des solutions renfermant 2 ou 5 p. 100 de taurocholate ou de glycocholate : dans chacun des cas observés, l'évagination des cysticerques s'est produite après 1 à 2 minutes d'imprégnation. Par conséquent, les liquides dont la concentration est supérieure à la teneur maxima en sels biliaires de la bile hépatique exercent, sur le parasite envisagé, une activation à peine moins intense que celle fournie par des solutions de moindre densité.

Ces résultats ne me permettent cependant pas de discuter, pour le moment, les observations de Malkani, dont les expériences ont porté sur des espèces que je n'ai pu jusqu'ici me procurer. Les durées d'imprégnation nécessaires pour produire l'évagination sont cependant tellement longues, qu'on se demande à juste titre si des fermentations acides ne se sont pas produites dans les milieux d'expérimentation. Le pH peut, comme il a été dit, lorsqu'il devient inférieur à une certaine limite, retarder, voire même inhiber, le phénomène de l'évagination.

En ce qui concerne le *Cysticercus pisiformis*, on peut constater que l'évagination est déclanchée immédiatement par la présence dans le milieu de certaines substances bien déterminées : l'excitation par la bile des contractions musculaires chez ces larves se ramène à une fonction péristaltique des sels biliaires dont le seuil est peu élevé.

Il n'est pas inutile de rappeler ici que l'efficacité des sels biliaires ne se fait sentir que dans des conditions bien déterminées, qui d'ailleurs sont les mêmes que pour la bile : une température de 37° à 38° et surtout un pH supérieur à 6,0, sont indispensables. On peut illustrer ce fait par une expérience simple, mais concluante. Si l'on plonge un cysticerque dans une solution franchement acide de sel biliaire, chauffée à 37°,5, on constate que le parasite ne s'évagine pas ; si alors on neutralise peu à peu le milieu par addition de bicarbonate de soude, on peut voir, au moment exact où l'effervescence prend fin, le scolex et le cou sortir de leur manchon.

Cependant, si les différents sels biliaires possèdent sur les contractions des cysticerques, un pouvoir stimulant analogue, ils ne se comportent plus de même dans leur action subséquente sur le parasite évaginé. Celui-ci évolue d'une façon très différente dans les solutions de chacun de ces sels.

Dans le taurocholate, les ondes péristaltiques parcourent inlassablement le manchon, le cou balance le scolex en tout sens, le rostellum et les ventouses s'étendent et se contractent sans arrêt ; la vitalité du jeune cestode ne diminue guère que le troisième jour suivant son évagination. La mort survient alors dans des conditions que je puis appeler normales ; car, au cours de mes nombreuses expériences, j'ai observé que, dans les différents milieux artificiels où j'ai plongé le parasite, celui-ci ne survit que trois ou quatre jours.

Dans le glycocholate, au contraire, le nombre des ondes péristaltiques et les mouvements d'extension diminuent rapidement : trois heures environ après l'évagination, le scolex seul bouge encore ; puis petit à petit l'animal s'immobilise complètement. Après une durée variant de 6 à 8 heures, l'animal semble mort. Il était indispensable cependant d'avoir une certitude absolue sur ce dernier point, l'absence de mouvements pouvant être en effet un phénomène passager. Devant la difficulté que l'on éprouve, chez les cysticerques, à déterminer le moment exact de la mort, j'ai appliqué, pour sa détermination, une méthode indirecte basée sur la digestibilité des cestodes morts.

J'ai donc plongé des cysticerques dans deux solutions de Ringer renfermant, l'une 2 p. 1.000 de glycocholate et l'autre une quantité identique de taurocholate ; après que l'évagination se fut produite, j'ai ajouté à chacune d'elles 1 p. 1.000 de pancréatine et d'érep-sine. Comme dans les expériences précédentes, on voit les parasites plongés dans le glycocholate, s'immobiliser peu à peu ; des lambeaux d'épiderme se détachent du germe et lorsqu'après dix heures d'immersion on agite le mélange, les animaux se disloquent complètement. Dans le taurocholate, au contraire, l'addition de ferments ne produit pas de changement important dans le comportement des animaux : les organes accessoires, la vésicule et le réceptaculum, sont digérés progressivement ; mais l'élément principal, le germe, se montre pendant trois jours invulnérable à l'action protéolytique des ferments. Ces expériences sont, à mon sens, concluantes. Elles permettent d'affirmer que le glycocholate est un élément toxique pour le *Cysticercus pisiformis*.

Or, précisément, la bile de chien, chez qui ce parasite se développe, ne renferme pas de glycocholate. Ce sel serait-il dès lors l'élément qui élimine le parasite dans l'intestin des hôtes inhospitaliers ? En d'autres termes, et d'une façon générale, le facteur de la spécificité de l'hôte définitif des cestodes serait-il un élément de la bile ?

Je ne puis pour le moment établir, avec une certitude absolue,

l'exactitude de cette hypothèse, dont la portée biologique est très étendue. Cependant, en ce qui concerne le *Cysticercus pisiformis*, j'ai pu confirmer mes observations par une expérience démonstrative, dont le principe reposait sur une étude comparative de l'évolution du parasite, d'une part dans la bile du chien, et, d'autre part, dans cette même bile additionnée de glycocholate. La composition exacte de ces milieux est détaillée ci-après :

	I	II	III
Liquide de Ringer.....	100 cm ³	100 cm ³	100 cm ³
Bile vésiculaire du chien.....	0,5 cm ³	0,5 cm ³	0,5 cm ³
Pancréatine.....	1,0 gr.	1,0 gr.	1,0 gr.
Kinase.....	0,1 gr.	0,1 gr.	0,1 gr.
Erepsine.....	1,0 gr.	1,0 gr.	1,0 gr.
Glycocholate de soude.....	0	0,2 gr.	0,7 gr.
Résistance du parasite.....	48 à 60 h.	10 à 15 h.	6 à 7 h.

Dans la solution I, maintenue à 37°,5, trois cysticerques sont digérés après 48 heures de contact, les deux autres après 60 heures ; la durée de résistance fut, par conséquent, normale. Dans la solution II, un individu a succombé après 10 heures, et quatre après 15 heures. Dans la solution III, tous les cinq sont disloqués après 7 heures. Ces observations démontrent nettement l'action néfaste du glycocholate sur le parasite ; la toxicité de cet élément semble être proportionnelle à sa concentration dans le milieu.

Pour le *Cysticercus pisiformis*, la spécificité de l'hôte définitif peut donc s'expliquer par l'absence de glycocholate dans la bile du chien. Peut-on déduire de cette constatation que les sels biliars sont les agents de cette spécificité pour les cestodes en général ? C'est possible, car nous savons que, non seulement la nature, mais aussi la somme des sels biliars est différente même chez les animaux appartenant à une même classe : chez le bœuf, l'acide cholique, C²³ H³⁶ (OH)³-COOH, est combiné surtout au glycocole, tandis que, chez le chien, il est lié exclusivement à la taurine ; la bile humaine renferme entre autres des dérivés de l'acide désoxycholique, C²³ H³⁷ (OH)²-COOH, alors que, chez le porc, ce liquide renferme surtout un isomère de cette substance, l'acide hyo-désoxycholique, combiné au glycocole et à la taurine ; d'autre part, le suc

biliaire de l'oie contient une combinaison de la taurine avec l'acide chénocolique, $C^{26}H^{41}(OH)^2-COOH$. L'expérimentation sur diverses espèces de cysticerques avec ces multiples dérivés confirmera peut-être l'opinion d'après laquelle ces éléments sont les facteurs de la spécificité de l'hôte définitif des cestodes.

Les produits de décomposition des sels biliaires. L'acide cholique. Le glyocolle. La taurine. — Dans l'intestin grêle, la composition du liquide biliaire, qui baigne le cysticerque, subit de profondes transformations : sous l'action des microorganismes, les sels sont dédoublés en leurs constituants. Il était par conséquent indispensable de rechercher si l'apparition de ces éléments produisait sur le parasite des modifications physiologiques.

Je me suis servi d'abord de solutions de cholate de soude dans le liquide de Ringer, chauffées à 37°5, et j'ai pu constater immédiatement un fait très important : les cholates possèdent, sur le phénomène de l'évagination, un pouvoir activant identique à celui des sels biliaires. Le tableau suivant résume les résultats obtenus avec cette substance :

CONCENTRATION EN GR. p. 1000	DURÉE NÉCESSAIRE DE L'IMPRÉGNATION	REMARQUES
2,0	10 à 20 sec.	Seuil de la réaction
0,2	<i>Id.</i>	
0,05	<i>Id.</i>	
0,04	<i>Id.</i>	
0,02	5 à 10 min.	

L'évagination, comme dans le cas des sels biliaires, est persistante : le scolex ne se réinvagine pas dans une solution de cholate de soude.

Après avoir déterminé le seuil de la réaction pour le cholate, qui, d'ailleurs, est du même ordre que celui des sels biliaires, j'ai essayé l'action de l'acide cholique lui-même. Cette substance étant très peu soluble dans l'eau, j'ai expérimenté en premier lieu avec de l'eau physiologique saturée de cet acide. Une telle solution, d'après mes déterminations personnelles, à 37°5 renferme 0 gr. 224 de substance active au litre ; son *pH* est de 6,2. Les cysticerques, qui y furent plongés, s'étant évaginés après quelques secondes, j'ai

continué mes expériences avec des solutions plus faibles ; j'en fais suivre les résultats :

CONCENTRATION EN GR. p. 1000	DURÉE NÉCESSAIRE DE L'IMPRÉGNATION	REMARQUES
0,224	10 à 20 sec.	pH : 6,2
0,112	<i>Id.</i>	pH : 6,4
0,056	<i>Id.</i>	
0,037	20 à 30 sec.	Seuil de la réaction
0,022	5 à 10 min.	

Le seuil de la réaction, pour l'acide cholique, est, à peu de chose près, le même que pour ses sels. Il est utile de remarquer qu'en solution aqueuse, la dissociation de cet acide est insuffisante pour abaisser le pH du milieu en-dessous des limites favorables à l'évagination du parasite.

De ces observations, se dégage une notion fondamentale : la propriété que possèdent les sels biliaires d'activer intensément l'évagination des cysticerques, doit être attribuée à la présence du radical cholique dans leur molécule.

Cependant, si les cholates et l'acide cholique possèdent un pouvoir stimulant sur le phénomène, il n'en est plus de même du glyocolle et de la taurine, qui eux se montrent absolument inactifs. Des essais effectués avec des solutions renfermant 5, 2 ou 0,2 p. 1.000 de ces substances n'ont donné aucun résultat ; d'autre part, l'addition de cholate à ces milieux a produit immédiatement l'évagination. Ces substances ne sont donc ni activantes, ni inhibantes ; leur présence n'a pas d'influence sur le comportement du parasite.

Il faut se demander ici quelle importance peut présenter, dans les conditions naturelles, pour le cysticerque, ce pouvoir stimulant des dérivés choliques. Après l'évacuation des dernières portions alimentaires de l'estomac dans le duodénum, l'écoulement de la bile par le canal cholédoque est interrompu. Les sels biliaires présents dans l'intestin grêle sont décomposés en leurs constituants, qui, eux, sont résorbés par la paroi intestinale. Cependant, une partie de l'acide cholique échappe à cette résorption : elle reste dans la cavité de l'intestin et sera, avec ses dérivés, évacuée avec les fèces. Dès lors, le rôle de l'acide cholique se comprend

aisément : il maintient en état d'évagination les cysticerques qui, après l'imprégnation par les sels biliaires, n'avaient pas encore eu l'occasion de se fixer à la muqueuse intestinale.

Les pigments biliaires. La bilirubine. La biliverdine. — Après l'étude des réactions que produisent, chez les cysticerques, les sels biliaires et leurs produits de dédoublement, j'ai voulu établir si les pigments biliaires, ces autres constituants spécifique de la bile, avaient une influence stimulante sur le phénomène de l'évagination.

La bile fraîche, venant du foie, contient, à l'état de bilirubinate alcalin, un pigment rouge, la bilirubine ; celui-ci, par oxydation, se transforme partiellement déjà dans la vésicule biliaire en biliverdinate qui renferme un pigment vert, la biliverdine. C'est avec ces deux substances que j'ai effectué mes recherches.

Par une agitation prolongée, les pigments ont été mélangés avec du liquide de Ringer, dans lequel, grâce à la présence de bicarbonate alcalin, ils se dissolvent légèrement. Dans les solutions saturées, chauffées préalablement à 37°,5, les cysticerques ne montrent guère de tendance à l'évagination ; il en est de même dans des solutions plus diluées. Toutefois, l'addition de sels biliaires, de cholate ou d'acide cholique dans le milieu d'expérimentation donne lieu à la production immédiate du phénomène.

Les pigments biliaires se comportent donc comme des éléments indifférents à l'égard du parasite.

La lécithine. La choline. — Après avoir déterminé l'influence des éléments spécifiques de la bile sur l'évagination du *Cysticercus pisiformis*, il importait d'examiner si les substances d'ordre secondaire possédaient la propriété de stimuler le phénomène.

Parmi celles-ci, la lécithine ne semble guère fonctionnelle : dans des solutions de Ringer renfermant de 1 à 10 p. 1.000 de cette substance et chauffées à 37°,5, les cysticerques se sont évaginés très irrégulièrement dans l'espace de 3 à 4 heures. Cet élément n'est donc ni un stimulant, ni un inhibant du phénomène.

Par contre j'ai pu établir que la choline, l'hydroxyde de triméthyl-oxéthyl-ammonium, qui prend naissance lors de l'hydrolyse de ce phosphatide, possède une activité très grande et de nature particulière.

Des essais préliminaires avec des solutions de chlorure de choline relativement concentrées, démontrèrent d'abord l'existence, chez cet élément, d'une propriété analogue à celle des sels biliaires : une

imprégnation des cysticerques pendant 20 secondes au maximum a suffi pour déclancher l'évagination. Des solutions de concentration moindre furent alors expérimentées et fournirent des résultats intéressants que je résume ici :

CONCENTRATION EN GR. p. 1000	DURÉE NECESSAIRE DE L'IMPRÉGNATION	DURÉE DE L'ÉVAGINATION	REMARQUES
0,9	5 à 20 sec.	30 à 40 min.	} Seuil de la réaction Ondes péristaltiques plus lentes Solution de Ringer
0,5	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	
0,1	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	
0,05	15 à 30 sec.	<i>Id.</i>	
0,02	5 à 10 min.	—	
0,01	8 à 12 min.	—	
0,005	15 à 30 min.	—	
0	3 à 4 heures	—	

La nature du phénomène, son intensité et sa production ne varient donc pas sensiblement avec une forte diminution de la concentration en choline du milieu : dans des solutions qui en renferment des quantités variables, allant de 1 à 0 gr., 05 par litre, les réactions du parasite ont été en tous points semblables. Cependant, à partir de cette concentration, la vitesse et l'intensité des ondes péristaltiques diminuent de plus en plus et la brusquerie du phénomène disparaît. La concentration minima de 5 ctgr. par litre, pour laquelle on peut considérer la réaction du parasite comme immédiate, constitue le seuil péristaltique pour la choline.

L'action stimulante de cette base ne se fait sentir que dans les conditions déterminées antérieurement : il faut une température et un pH favorable.

Cependant, s'il existe une identité d'allure dans le phénomène de l'évagination déclanché par la choline ou par les sels biliaires, il n'en est pas moins vrai que le comportement ultérieur du cestode évaginé n'est pas le même dans ces différents milieux : alors que, dans les sels biliaires, l'évagination est persistante comme dans la bile, on constate, dans une solution de choline, que le scolex se réinvagine 30 à 40 minutes après le début de l'expérience. Quelques heures plus tard, on voit celui-ci sortir une seconde fois de son enveloppe, pour s'invaginer à nouveau quelque temps après. L'animal semble subir, au cours de la période d'évagination, une

fatigue musculaire que l'excitation fournie par la choline est insuffisante à contrebalancer : ce n'est qu'après une longue période de repos que son pouvoir stimulant l'emporte à nouveau.

L'addition, au moment de la réinvagination, d'une nouvelle dose de choline ne produit, comme on pouvait le prévoir, aucun effet sur l'allure du phénomène ; mais l'addition à cet instant d'une solution de bile, de sel biliaire ou d'acide cholique donne immédiatement lieu à une nouvelle évagination qui, cette fois, sera persistante. Cette différence dans le comportement du parasite démontre que la choline doit être considérée, non comme un stimulant d'ordre principal, mais comme un élément adjuvant qui, en l'absence de l'excitant proprement dit, peut, pendant un certain temps, maintenir le parasite en état d'évagination.

Je me suis demandé quelle importance peut présenter, dans les conditions naturelles, pour le cysticerque, ce pouvoir stimulant de la choline. La réponse à cette question implique une connaissance exacte de la provenance de la choline présente dans la cavité intestinale. Tout d'abord, on ne sait pas si, lors du dédoublement de la lécithine par les ferments dans l'intestin, la dislocation va jusqu'à une mise en liberté de la choline ; ensuite, on discute la présence de choline libre dans la bile même. J'ai ainsi été amené à faire des recherches personnelles à ce sujet.

J'ai opéré sur la bile du bœuf et du porc. Les solutions, acidifiées par l'acide chlorhydrique, ont été désalbuminées et les filtrats évaporés sur le bain-marie, après addition d'un demi-volume de solution aqueuse saturée d'alloxane : les résidus alcalinisés par la soude se sont colorés en bleu. D'autre part, une goutte de filtrat acétique, également désalbuminé, mélangée avec une goutte de solution à 5 p. 100 d'iode ioduré, a permis d'observer au microscope la formation fugace et normale des cristaux de Florence. La présence de choline libre dans la bile ne fait donc point de doute.

Cependant, la libération de cette base dans l'intestin au dépens de la lécithine, n'a pu être prouvée. Car un essai préliminaire sur la pancréatine et l'érepsine, mises en œuvre pour dédoubler le phosphatide, démontrèrent que ces ferments renferment eux-mêmes de la choline libre : en opérant comme il a été indiqué pour les essais sur la bile, les filtrats ont donné une réaction franche avec l'alloxane et quelques cristaux, moins nets il est vrai, avec la solution d'iode.

On peut donc affirmer que le flux biliaire, en même temps que le suc pancréatique et intestinal, déversent de la choline dans la lumière de l'intestin. L'action stimulante de celle-ci s'ajoute évidemment, en ordre secondaire, à celle des sels biliaires pour assurer

l'évagination rapide des cysticerques. Ensuite, pendant la période de rétention de la bile dans la vésicule, durant laquelle les sels biliaires présents dans l'intestin sont décomposés en leurs constituants, elle favorise, en même temps que l'acide cholique, mais d'une façon moins persistante, l'évagination des cysticerques non encore fixés à la muqueuse intestinale. La choline se comporte donc comme un adjuvant des sels biliaires, dont l'action augmente les chances de développement des cysticerques.

Dans un autre ordre d'idées, le pouvoir stimulant de la choline fournit l'explication d'une observation que j'ai faite en 1933 : des cysticerques, plongés dans une solution de pancréatine, s'évagent après 20 à 40 minutes. L'activation lente du phénomène dans ce milieu se comprend par la présence de faibles quantités de choline dans ce suc digestif.

La cholestérine. Les graisses. Les acides gras. Les savons. — J'ai terminé mes recherches sur l'action des éléments non spécifiques de la bile par des essais avec la cholestérine. Cette substance étant presque insoluble dans l'eau, j'ai néanmoins fait agir sur des cysticerques une solution de Ringer, agitée préalablement avec de la cholestérine finement divisée. L'obtention d'un résultat négatif m'engagea à essayer l'action de solutions plus concentrées. La préparation de celles-ci est basée sur le pouvoir que possède la lanoline d'absorber de fortes quantités d'eau : en triturant avec beaucoup d'eau cette graisse, on obtient une émulsion qui renferme en même temps des substances grasses et de la cholestérine.

Des cysticerques plongés dans ce mélange, chauffé à 37°.5, se comportèrent comme dans le liquide de Ringer. Toutefois, l'addition de sels biliaires produisit l'évagination après quelques secondes. Il s'en suit que la cholestérine, les graisses et les acides gras doivent être considérés comme des substances inactives sur le phénomène de l'évagination.

Enfin, j'ai essayé l'action de solutions de savons neutres à des concentrations variant entre 0,1 et 10 p. 1.000 ; ceux-ci également se comportent comme des substances inertes.

CONCLUSIONS

Une étude analytique de la fonction biliaire, dans le phénomène de l'évagination chez *Cysticercus pisiformis*, a fourni des résultats intéressants sur la migration des cysticerques et sur la spécificité de l'hôte définitif des cestodes.

1. Dans l'eau physiologique ou dans le liquide de Ringer, à 37°,5, le pH étant supérieur à 6,0, l'évagination du cou et du scolex se fait d'une façon irrégulière dans les 3 à 4 heures qui suivent l'immersion du cysticerque.

2. En présence de bile, quelle que soit son origine, les conditions de température et de pH étant les mêmes, le phénomène a lieu presque instantanément : une imprégnation de 20 secondes au maximum suffit pour activer les contractions péristaltiques du manchon au point de produire l'évagination du scolex.

3. La recherche de l'élément responsable qui, dans la bile, déclenche le phénomène, a démontré que les ferments diastasiques et tryptiques, les pigments biliaires, de même que la lécithine, la cholestérine, les graisses, les acides gras et les savons sont des substances indifférentes à l'égard du parasite.

4. Parmi les éléments spécifiques de la bile, les sels biliaires indistinctement possèdent un pouvoir stimulant très énergique. Les essais furent effectués avec des solutions renfermant des quantités de taurocholate ou de glycocholate de soude variant entre 50 et 0 gr., 001 par litre, la température du milieu étant 37°,5, et le pH supérieur à 6,0 ; des concentrations situées entre le seuil, qui est de 5 ctgr. p. 1.000, et la teneur maxima en sels biliaires de la bile hépatique, qui est de 10 gr. p. 1.000, déclenchent immédiatement l'évagination du parasite ; à des teneurs plus élevées, l'activation est légèrement affaiblie, alors que, dans des concentrations inférieures au seuil, le pouvoir stimulant disparaît rapidement. L'excitation par la bile des contractions musculaires du manchon, chez les cysticerques, se ramène ainsi à une fonction péristaltique des sels biliaires.

5. Une étude de l'action des produits de décomposition des sels biliaires dans l'intestin a démontré l'inactivité absolue de la taurine et du glycocholate. Par contre, les cholates et l'acide cholique ont montré un pouvoir stimulant en tous points semblable à celui des sels biliaires : le seuil de la réaction pour ces substances est de 4 ctgr. p. 1.000. Une notion fondamentale se dégage de ces observations : la propriété que possèdent les sels biliaires d'activer intensément l'évagination des cysticerques, doit être attribuée à la présence du radical cholique dans leur molécule.

6. Cependant, si les différents sels biliaires déclenchent, d'une manière uniforme, l'évagination, ils ne se comportent plus de la même manière dans leur action subséquente sur le parasite évaginé. Le glycocholate est un élément toxique pour le *Cysticercus pisiformis* ; or précisément, dans la bile du chien, chez qui ce para-

site se développe, cette substance fait défaut. Il s'en suit que la spécificité de l'hôte définitif, pour ce cestode, peut s'expliquer par une action sélective des sels biliaires qui éliminerait le cysticerque dans l'intestin des hôtes inhospitaliers. Tenant compte du fait que, non seulement la nature, mais aussi la somme de ces sels est différente même chez les animaux appartenant à la même classe systématique, on peut se demander si, d'une façon générale, ces éléments ne sont pas les facteurs de la spécificité de l'hôte définitif des cestodes.

7. Il existe dans la bile, à très faible dose, une substance non spécifique, que j'ai découverte également dans le suc pancréatique et intestinal, et dont les propriétés se rapprochent de celles des sels biliaires : c'est la choline. Elle active l'évagination au même titre que ces derniers, le seuil de la réaction correspondant à une concentration de 5 ctgr. par litre. Cependant, l'action stimulante de cette base n'est pas persistante et dans une solution de chlorure de choline, le scolex se réinvagine après 30 à 40 minutes ; l'addition à cet instant d'une solution de bile, de sel biliaire ou d'acide cholique donne lieu à une nouvelle évagination qui, cette fois, sera persistante. La choline se comporte donc comme un stimulant d'ordre secondaire, comme un élément adjuvant qui, en l'absence de l'excitant principal, peut, pendant un certain temps, maintenir le cysticerque en état d'évagination.

8. Ces recherches permettent de comprendre, tout au moins pour le *Taenia serrata*, l'évolution du parasite dans son milieu naturel, pendant la seconde migration de son cycle évolutif. Le *Cysticercus pisiformis*, avalé par un mammifère, est dégagé de son enveloppe kystique par la mastication dans la bouche ou par l'action dissolvante de la pepsine dans l'estomac ; dans cet organe, le cysticerque se présente donc avec un germe expulsé, dans lequel, par suite du pH défavorable du milieu stomacal, le scolex et le cou restent invaginés. Déversé par le pylore dans le duodénum, le parasite est imprégné de suc pancréatique alcalin et de bile : le pH augmente rapidement ; les sels biliaires, et secondairement aussi la choline, activent les contractions péristaltiques du manchon, produisant infailliblement l'évagination du scolex et du cou. Les mouvements d'extension et de rétraction des ventouses et du rostellum débute immédiatement, favorisant ainsi les probabilités d'adhésion à la muqueuse intestinale. A partir de ce moment, les sels biliaires sont, petit à petit, décomposés et résorbés par l'intestin. Mais une partie de leur constituant fondamental, l'acide cholique, échappe à cette résorption ; celui-ci maintient en état d'évagination les cysti-

cerques non encore fixés. La choline peut d'ailleurs, pendant quelque temps, remplir une fonction analogue et augmenter les chances de développement du parasite.

Pendant ses pérégrinations dans l'intestin, l'action toxique du glycocholate élimine le *Cysticercus pisiformis* chez les mammifères inhospitaliers ; seul le chien, dont la bile est exempte de cette substance, lui fournit un milieu inoffensif. Dans l'intestin de cet hôte, les organes annexes de la larve, dont la cuticule a été imprégnée préalablement de suc gastrique acide, succombent à l'action de la pancréatine : la vésicule, le réceptaculum et peu à peu le manchon sont disloqués. Par contre, les organes vitaux, le cou et le scolex, dont l'évagination s'est produite seulement dans l'intestin et dont, par conséquent, la cuticule est intacte, résistent aux ferments déversés dans cet organe. A partir de ce moment, le jeune cestode commence son développement.

BIBLIOGRAPHIE

- BUTNING (P.). — Ueber den Mechanismus der Verwandlung des *Cysticercus cellulosus* in die *Tænia solium* und über die Wirkung der Verdauungssäfte auf diesen Prozess. *Zeitschr. für Morphologie und Oekologie der Tiere*, VIII, 1927, p. 424-428.
- MALKANI (P.-G.). — Rapid method for evaginating the Scolices in Parasitic Cysts. *The Indian Veterinary Journal*, IX, 1933, p. 193.
- TSCHERMAK (A.). — Notiz über das Verdauungsvermögen der menschlichen Galle. *Centralblatt für Physiologie*, XVI, 1902, p. 329.
- WAELE (A. de). — De overgang tot Lintworm van *Cysticercus pisiformis*, de vin van *Tænia serrata* Goeze. *Natuurwetenschappelijk Tijdschrift*, Gent, XV, 1933, p. 155-162.
- Recherches sur les migrations des Cestodes. Troisième note : Sur le mécanisme de l'infection de l'hôte définitif par la larve. Expériences sur le type cysticerque. *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, Classe des Sciences*, 1933, p. 1133.
- WITTICH (v.). — Zur Physiologie der menschlichen Galle. *Pflügers' Archiv. für die gesamte Physiologie des Menschen und der Thiere*, VI, 1872, p. 181.

Laboratoire de Zoologie de l'Université de Gand.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.