

## ETUDE DE L'IMMUNITÉ DES RONGEURS A L'EGARD D'*HYMENOLEPIS NANA* (VON SIEBOLD 1852, BLANCHARD 1891)

Par J. BAILENGER, M. BAUDOIN et R. PAUTRIZEL

Dans les élevages, les souris et les rats porteurs d'*Hymenolepis nana* se déparasitent spontanément à un certain âge. Signalé dès 1887 par Grassi, ce fait de constatation courante, sur lequel de nombreux auteurs sont revenus par la suite, est à rapprocher de celui que les épidémiologistes font dans le genre humain : *Hymenolepis nana* est essentiellement un parasite de l'enfance.

En 1933, Shorb (16), étudiant ce phénomène, note que cet état de résistance s'établit plus lentement chez les souris que chez les rats : les premiers peuvent être parasités dans la proportion de 80 %, à l'âge de 7 mois ; les seconds ne peuvent l'être qu'au pourcentage de 3,33, à l'âge de 4 mois. Mais cet auteur insiste tout particulièrement sur le fait que les souris manifestent une résistance relative pendant et aussitôt après le sevrage, pour s'atténuer puis disparaître ultérieurement. Cette particularité a motivé de nombreuses hypothèses. Pour Hunninen (8), l'explication est de nature anatomique : la longueur de l'intestin (25 cm. chez des animaux de 15 jours, 40 cm. chez ceux âgés de 2 mois), les villosités intestinales trop petites chez les souris de 15 jours pour permettre le développement normal des cysticercoïdes, sont deux empêchements majeurs à l'implantation des *Hymenolepis* chez les jeunes souris. Larsh (10) et Read (15) attribuent une place prépondérante aux facteurs physiologiques : la rapidité du transit intestinal, qui est de règle chez les jeunes souris, ne permet ni aux enzymes digestifs ni aux sels biliaires d'agir efficacement pour provoquer la dévagination du cysticercoïde. D'autres auteurs insistent sur l'influence du régime alimentaire. Larsh (9) fait intervenir des facteurs immunologiques en admettant que la résistance présentée par les très jeunes animaux serait transmise par l'organisme maternel *in utero*, ainsi qu'au cours de la lactation, et serait due à des anticorps. Cet auteur ajoute que la présence d'une infection concomitante à la gestation ne serait pas indispensable au transfert de l'immunité. Mais précisons qu'il s'agit d'anticorps hypothétiques qui n'ont jamais été mis en évidence au niveau des humeurs.

La difficulté de trouver des preuves indiscutables pour expliquer la moindre réceptivité des jeunes souris se retrouve lorsqu'il s'agit du développement de la résistance avec l'âge. Voici le problème posé dans toute sa complexité. La résistance acquise semble un fait incontestable, mais son déterminisme est imprécis : changements anatomiques ou physiologiques survenus chez l'hôte avec l'âge, acquisition d'une immunité spécifique.

Ce travail veut essayer de préciser deux points importants de ce problème :

- 1° L'évolution du parasitisme chez les souris en fonction de l'âge.
- 2° Les réactions consécutives au parasitisme.

En confrontant et en interprétant les résultats expérimentalement acquis, nous essaierons de dégager les facteurs qui conditionnent l'évolution d'*Hymenolepis nana* chez la souris.

### I. Evolution du parasitisme par *Hymenolepis nana* en fonction de l'âge des souris

La technique expérimentale appliquée ici consiste à suivre le cours du parasitisme :

- 1° Chez des animaux jeunes soumis à une première infestation.
- 2° Chez des animaux âgés ayant subi au moins une infestation et une réinfestation expérimentales.

*Technique d'infestation expérimentale* : Les souris sont infestées par ingestion d'œufs d'*Hymenolepis nana*. Les œufs sont isolés à partir des fèces de souris par la technique de Hearin (7) : délayer les pellets fécaux dans de l'eau ; éliminer les débris les plus volumineux par sédimentation et les plus légers par tamisage. La suspension d'œufs sert d'eau de boisson pendant trois semaines, en prenant soin de la renouveler chaque jour afin que la vitalité des œufs soit à son maximum.

Précisons que, pendant toute la durée de l'expérimentation, l'alimentation est uniforme. Cette remarque a son importance car de nombreux travaux, parmi lesquels ceux de Frye (6), Shorb (16), Chandler (3), ont montré que l'implantation d'*Hymenolepis* dans le tractus intestinal est soumise à des variations notables à la suite de changements survenus dans le régime alimentaire.

#### 1° Evolution du parasitisme chez des jeunes souris soumises à une première infestation.

120 souris de 20 à 25 jours sont infestées dans les conditions qui viennent d'être précisées, puis soumises à un examen coprologique

à raison d'un par semaine. Un certain nombre d'animaux ne présentant pas d'œufs dans leurs selles sont autopsiés pour dissocier l'état caractérisé par l'absence d'*Hymenolepis* de celui qui correspond à la présence de vers immatures.

L'apparition d'œufs dans les selles se situe environ 20 jours après le début de la contamination. Au 25<sup>e</sup> jour, 51,6 % des souris en expérience éliminent des œufs d'*Hymenolepis nana*. Ce pourcentage s'accroît au cours des semaines suivantes pour se stabiliser à 89,1 quinze semaines après le début de l'expérience. La lecture du tableau I rend compte de cette évolution et conduit à penser que 10,9 % des souris, dans les excréments desquelles aucune analyse n'a permis d'observer d'œufs, sont réfractaires au parasitisme. Or, pendant la période s'étalant du 20<sup>e</sup> au 55<sup>e</sup> jour (le début de l'infestation étant pris pour origine), 20 souris classées dans cette catégorie ont été autopsiées. L'intestin grêle de chacune d'elles hébergeait des *Ténia* nains immatures.

TABLEAU I

Evolution de la coprologie de 120 jeunes souris  
soumises à une première infestation par *Hymenolepis nana*

Temps (jours) après le début de l'infestation	Pourcentage des souris éliminant ou ayant éliminé des œufs d' <i>Hymenolepis nana</i>	Pourcentage des souris éliminant des œufs d' <i>Hymenolepis nana</i> à la période considérée
25	51,6	51,6
34	64,0	56,6
41	71,8	55,0
46	76,7	51,6
53	81,6	48,3
60	82,5	42,5
67	84,2	31,6
73	85,8	23,3
80	85,8	17,5
91	85,8	12,5
98	87,5	6,6
105	89,1	4,1
112	89,1	0

Nous pouvons donc admettre que toutes les souris, dès l'âge de trois semaines, sont susceptibles d'être parasitées par *Hymenolepis nana*. Mais, tandis que 89,1 % d'entre elles permettent au parasite d'atteindre sa maturité sexuelle, 10,9 % présentent une résistance relative telle que le ver est expulsé avant de devenir adulte.

Seize semaines après le début de la contamination, plus aucune souris ne présente d'œufs dans ses pellets fécaux. Cette disparition est progressive, ainsi qu'en témoigne le tableau I qui rapporte les pourcentages des souris qui éliminent des œufs à une période donnée. Après un maximum voisin de 60 % aux environs du 40<sup>e</sup> jour, la chute s'amorce et se poursuit lentement, matérialisant de toute évidence une modification de l'état parasitaire que confirment les autopsies pratiquées 70 à 112 jours après le début de l'infestation. Bien qu'ayant antérieurement éliminé des œufs dans leurs fèces, aucune des souris autopsiées pendant cette période ne renferme de *Ténia* dans son intestin grêle.

La disparition des œufs dans les fèces des souris coïncide donc avec l'expulsion du *Ténia* et ne reflète ni une perte ni même une altération de sa reproductivité. Ainsi, aux environs de son 3<sup>e</sup> mois, le parasitisme disparaît. Ce fait suscite des hypothèses que nous soulèverons et discuterons ultérieurement lorsque nous serons en possession d'autres faits expérimentaux et en particulier lorsque nous connaissons le comportement des souris âgées soumises à des réinfestations.

## 2° Evolution du parasitisme chez des souris âgées soumises à des réinfestations.

Trois lots de souris, respectivement âgées de 4, 6 et 10 mois, sont réinfestées dans les conditions de la primo-infection qu'elles avaient subie alors âgées de trois semaines. Au bout de trois semaines (temps minimum nécessaire au ver pour atteindre le stade de maturité sexuelle), le parasitisme engendré par cette réinfestation est suivi par des examens coprologiques hebdomadaires durant 21 jours, époque à laquelle les animaux sont autopsiés.

Tous les critères choisis pour suivre les résultats de cette expérience de réinfestation (proportions des souris éliminant des œufs avec leurs excréta, pourcentage des souris parasitées, nombre moyen de vers par souris autopsiée) ont permis de conclure que la réceptivité décroît avec l'âge.

Ainsi, tandis que toutes les souris âgées de trois semaines et contaminées pour la première fois par *Hymenolepis nana* se parasitent, 89,1 % d'entre elles permettant au ver d'atteindre sa maturité sexuelle, seules 42,1 %, 10,0 % et 9,5 % des rongeurs, respectivement âgés de 4, 6 et 10 mois, sont réceptifs, et seulement 5,3 % et 9,5 % sont capables aux mêmes âges de présenter des œufs dans leurs excréments. Dans le même temps, le nombre moyen des vers trouvés à l'autopsie des souris parasitées passe de 18 à 3,5, 1 et 3,0.

La réduction de l'infestation des souris permet d'affirmer l'exis-

tence d'une résistance acquise par ces rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*. Toutefois, elle ne permet pas d'expliquer l'élimination du parasite de l'organisme-hôte. En effet, toutes les souris mises en expérience se sont spontanément déparasitées, mais restent susceptibles de se reparasiter dans une proportion moindre qui décroît avec l'âge. Si la résistance acquise est la cause de l'élimination du Cestode, il ne peut s'agir que d'une résistance temporaire.

En résumé, les résultats des expériences rapportées dans ce chapitre sont les suivants :

1° Agées de trois semaines, toutes les souris sont réceptives, mais 10,9 % présentent une résistance partielle.

2° Aux environs du troisième mois de son évolution, le parasitisme disparaît.

3° La réinfestation est possible avec une fréquence continuellement décroissante qui traduit parallèlement une résistance progressivement croissante.

Donc, si, à la suite de ces résultats, on peut parler d'une résistance acquise par les souris à l'égard du Ténia nain, on ne peut préciser si elle est la conséquence des transformations anatomiques, physiologiques, biochimiques qui accompagnent le vieillissement ou s'il s'agit d'un état d'immunité spécifique acquis au cours du parasitisme.

## II. Réactions des Rongeurs consécutives au parasitisme par *Hymenolepis nana*

Pour essayer de dégager les facteurs de l'évolution du parasitisme dont le sens nous est donné par les expériences décrites au paragraphe précédent, nous allons :

1° Apprécier les réactions de l'organisme à l'égard du parasitisme en suivant l'évolution de la courbe de l'éosinophilie.

2° Etudier l'état d'immunité spécifique.

3° Rechercher les anticorps.

### 1° Evolution de l'éosinophilie au cours du parasitisme.

L'éosinophilie signalée chez les porteurs d'*Hymenolepis nana* est généralement assez discrète. Précisons toutefois qu'il n'est pas tenu compte du facteur chronologique sur lequel Lavier (11) a particulièrement insisté, dans l'ignorance du moment depuis lequel évolue la parasitose.

Donckaster (4) rapporte que 33 % des 43 porteurs d'*Hymenolepis nana* qu'il eut l'occasion d'observer ont une éosinophilie relative

supérieure à 5 % et que chez 11 % seulement des mêmes sujets, elle dépasse 7 %. Oquinéma (12), étudiant 22 sujets parasités, note une éosinophilie de 0 à 14 %, soit en moyenne 6 %. C'est un taux de 5 % avec 7.800 leucocytes au millimètre cube que nous avons relevé chez un sujet de 22 ans porteur d'*Hymenolepis*, mais parasité également par des oxyures.

Les souris de 3 semaines contaminées par voie buccale, à l'aide d'œufs d'*Hymenolepis* mis en suspension dans leur eau de boisson, et chez lesquelles nous avons suivi l'évolution du parasitisme par la coprologie, sont soumises à des prélèvements hebdomadaires de sang par ponction au niveau du sinus oculaire. Le tableau II et le graphique 1 résument ces résultats.

TABLEAU II

Evolution de l'éosinophilie au cours du parasitisme par *Hymenolepis nana*  
(Première infestation des souris de 3 semaines)

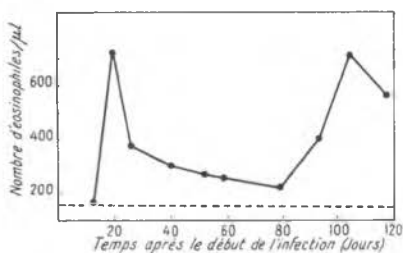
Temps après le début de l'infestation (jours)	Nombre moyen de leucocytes par mm <sup>3</sup>	Pourcentage moyen d'éosin.	Nombre absolu d'éosinophiles par mm <sup>3</sup>
Souris - témoins	13.600	0,4	54
7	11.000	0,5	55
13	13.800	0,4	55
20	13.600	4,8	652
27	8.660	3,3	281
42	10.500	2,0	210
55	11.300	1,3	170
62	7.100	2,3	164
83	6.100	2,0	122
98	15.000	2,0	300
109	15.500	4,0	620
124	10.500	4,5	472

La courbe d'éosinophilie obéit à la loi générale qui régit l'évolution de l'éosinophilie parasitaire en fonction du temps : courbe en « coup d'archet » succédant à une période de latence d'une douzaine de jours et présentant un maximum aux environs du 20<sup>e</sup> jour de l'infestation, soit quelques jours avant l'apparition des œufs dans les selles (25<sup>e</sup> jour).

Eosinophilie faible : le maximum se situe aux environs de 5 % sans variation notable du nombre absolu de globules blancs.

La courbe remonte au 98<sup>e</sup> jour après le début de l'infestation pour décrire un nouveau clocher dont le sommet se situe trois semaines plus tard. Cette nouvelle ascension de l'éosinophilie, qui évolue selon un schéma comparable à celle consécutive à la première infestation, mérite de retenir l'attention et nous servira d'argument pour situer l'époque de la réinfestation.

FIG. 1. — Evolution de l'éosinophilie en fonction du temps



## 2° Etat d'immunité spécifique.

Des jeunes souris et rats ayant préalablement reçu des injections d'extraits d'*Hymenolepis* sont contaminés selon le mode habituel.

L'immunisation active expérimentale est réalisée en injectant, par voie intra-péritonéale, à des souris et à des rats, un extrait aqueux d'*Hymenolepis nana* délipidés et broyés. L'introduction des rats dans ces expériences n'a d'autre but que de nous permettre de disposer d'un volume plus considérable de sérum destiné à la recherche des anticorps.

L'immunisation dépend de nombreux facteurs parmi lesquels nous retiendrons particulièrement : la quantité et l'état du matériel antigénique, la voie et le rythme des injections. Il faudra également tenir compte du laps de temps écoulé entre les injections antigéniques et l'infestation.

— *Antigène* : Les vers prélevés au moment de l'autopsie sont soigneusement lavés avec de l'eau salée à 9 ‰, puis essorés. Ils sont broyés par congélations et décongélations successives. On parfait le broyage en soumettant la pulpe réfrigérée à l'action d'un homogénéiseur. La pâte blanche obtenue est épuisée à plusieurs reprises par de l'acétone, la fraction acétono-insoluble étant recueillie entre deux lavages par centrifugation. Après le dernier traitement, elle est débarrassée des traces d'acétone en la portant sous vide en présence d'anhydride phosphorique. On obtient une poudre d'où l'on extrait la fraction hydro-soluble en la mettant au contact de dix parties (en poids) d'eau salée à 9 ‰, au bain-marie, à 37° C. pendant une heure. La suspension est abandonnée 24 heures à + 4° C., puis centrifugée pendant 5 minutes à 2.000 tours/minute. Le liquide

opalescent, mais homogène, est décanté et conservé à  $-25^{\circ}\text{C}$ . ; il constitue le réactif antigénique que nous utilisons, après titrage, pour la recherche des anticorps.

Pour immuniser expérimentalement souris et rats, l'antigène est adsorbé sur les particules colloïdales d'alumine obtenues en amenant à  $\text{pH} = 7,00$  une solution aqueuse à 2 % d'alun de potassium. Cette suspension correspond à une dilution antigénique au 1/500<sup>e</sup>. On la conserve à  $-25^{\circ}\text{C}$ . jusqu'au moment de l'emploi.

— *Immunisation* : Les animaux, âgés de 3 semaines, sont répartis en deux lots, qu'il s'agisse de souris ou de rats :

— lot expérimental soumis à l'injection intra-péritonéale d'antigène adsorbé sur alumine : 7 souris et 7 rats.

— lot témoin soumis à l'injection intra-péritonéale d'une suspension d'alun à 2 % ajustée à  $\text{pH} = 7,00$  : 7 souris et 7 rats.

Une injection est pratiquée tous les deux jours, pendant 3 semaines, à raison de 0,10 ml. la première semaine, 0,20 ml. les deux semaines suivantes pour les souris, 0,25 et 0,50 ml. pour les rats. Huit jours après la dernière injection, nous effectuons une piqûre de rappel de 0,20 ml. (souris), 0,50 ml. (rats), après avoir pris la précaution de soumettre les animaux, une demi-heure plus tôt, à une injection d'un antihistaminique.

— *Contamination* : Cinq jours après l'injection de rappel, on commence la contamination des souris et on la poursuit pendant 15 jours. C'est dire que, pendant tout ce laps de temps, l'eau de boisson tiendra en suspension des œufs d'*Hymenolepis nana* recueillis dans des selles de souris. L'eau infestante est renouvelée quotidiennement.

Les rats ne sont pas soumis à une contamination expérimentale. Animaux témoins et « immunisés » sont mis dans une même cage où ils subissent l'infestation naturelle.

Au cours de cette expérience, la mortalité des souris fut élevée (tant dans le lot témoin que dans le lot expérimental), de sorte que, partis de 14 souris, six seulement purent être autopsiées à la fin de la contamination. Les trois souris témoins éliminaient des œufs et étaient parasitées par de très nombreux vers (40 en moyenne). Une souris immunisée sur trois éliminait des œufs ; elle portait 30 *Hymenolepis nana*, une autre en avait 10 à 12, la dernière en avait deux, soit une moyenne de 15 vers à opposer à une moyenne de 40 chez les témoins.

Quant aux rats, six jours après l'injection de rappel, trois sur sept de ceux qui avaient été soumis aux injections antigéniques avaient des œufs dans leurs selles contre quatre chez les témoins. A l'autopsie, ceux-ci portaient en moyenne douze Cestodes, tandis que les premiers n'en hébergeaient que six.

Il semble donc que les injections répétées d'extraits aqueux de vers broyés et délipidés créent dans l'organisme des Rongeurs une immunité, faible sans doute, mais certaine.



### 3° Recherche des anticorps.

Démontrer l'existence d'une immunité ne résout pas le problème qui comporte encore de nombreuses questions à élucider. On peut en particulier se demander quel est le support de cette immunité. Ceci nous conduit à rechercher les anticorps par des réactions sérologiques et par l'étude du pouvoir protecteur du sérum.

#### a) RECHERCHE DES ANTICORPS PAR LES TECHNIQUES SÉROLOGIQUES

Les anticorps sont recherchés : 1° chez des animaux parasités (immunisation active naturelle) ; 2° chez des animaux ayant subi des injections d'extraits d'*Hymenolepis* (immunisation active expérimentale).

Deux techniques sont utilisées pour la mise en évidence des anticorps : la technique d'hémolyse et celle de congélation. L'une et l'autre appliquent le principe de la fixation du complément sur le complexe antigène-anticorps, mais elles diffèrent par l'artifice employé pour matérialiser la fixation du complément.

Dans la technique d'hémolyse, nous effectuons la fixation du complément de cobaye en le mettant au contact du sérum suspect décomplémenté et du réactif antigénique pendant 12 à 16 heures à + 4° C., puis 10 minutes à 37° C. Le système hémolytique révélateur comporte une suspension d'hématies de mouton et du sérum de lapin anti-globules rouges de mouton. En l'absence d'anticorps dans le sérum suspect, le complément reste libre et se fixe sur les globules rouges sensibilisés dont il provoque la lyse.

Pour la technique de congélation : le sérum suspect décomplémenté est mis en présence de l'antigène spécifique et du sérum de cheval pendant une heure à la température du laboratoire. Le système révélateur se compose d'une suspension d'hématies de mouton et de sérum de bœuf, lequel apporte les anti-globules rouges de mouton, ainsi qu'un principe dénommé congélationine par Bordet-Streng (1909). Si le sérum suspect ne renferme pas d'anticorps, le complément reste libre et se fixe sur les globules rouges sensibilisés dont il provoque la congélation, en présence de congélationine.

Les deux techniques ont été effectuées avec plusieurs réactifs antigéniques :

— Extrait aqueux d'*Hymenolepis nana* broyés et délipidés dont la préparation a été décrite précédemment.

— Extrait aqueux total d'*Hymenolepis nana* broyés et non délipidés : la pulpe, obtenue par congélations et décongélations successives, puis soumise à l'action d'un homogénéiseur, est épuisée

par de l'eau salée à 9 ‰ à 37° C. pendant une heure, puis à + 4° C. pendant 24 heures. La suspension est clarifiée par centrifugation.

— Extraits aqueux de *Moniezia expansa* broyés, délipidés ou non et préparés dans les mêmes conditions que ceux obtenus à partir d'*Hymenolepis nana*.

Le mode opératoire détaillé de ces réactions a été décrit par l'un de nous dans sa thèse [Baudoin (1)], ainsi qu'antérieurement par Pautrizel, Bailenger et Caillau (14) à propos de la Distomatose et par Pautrizel et Bailenger dans l'Hydatidose (13). Nous n'y reviendrons donc pas.

Quel que soit le réactif antigénique employé et la technique mise en œuvre, les réactions ont toutes été négatives, tant avec les sérums de souris prélevés à des époques variées d'évolution de la parasitose au cours de la première infection et des réinfestations, qu'avec les sérums provenant de souris et de rats ayant reçu par voie intrapéritonéale des injections d'extraits aqueux d'*Hymenolepis nana* délipidés, adsorbés sur alumine, selon un protocole opératoire précédemment décrit (voir immunisation active expérimentale). Le sang était prélevé six jours après l'injection de rappel.

Les anticorps n'ont pas davantage pu être mis en évidence dans le sérum d'un jeune homme porteur d'*Hymenolepis nana*.

Cet échec des techniques de fixation du complément hémolytique et du complément congulinant peut tenir à des causes variées, et plus particulièrement à une déficience des réactions employées en regard du système antigène *Hymenolepis*-anticorps anti-*Hymenolepis*, déficience liée au principe de la réaction, à la nature du complément, aux conditions de sa fixation, autant de facteurs sur lesquels il convient d'agir avant de conclure.

#### b) POUVOIR PROTECTEUR DU SÉRUM

Le sérum provient de rats infestés à l'âge de trois semaines par ingestion quotidienne d'œufs d'*Hymenolepis nana* pendant 15 jours. Les rats sont saignés trois semaines après le début de l'infestation, alors qu'ils présentent tous des œufs dans leurs selles et que les autopsies révèlent leur parasitisme par la présence d'un grand nombre de vers.

L'expérience d'immunisation passive est conduite sur 14 souris réparties en deux lots égaux. Aux souris de l'un des lots, on injecte du sérum ; les autres subissent des injections de soluté physiologique. Les injections, faites par voie intra-péritonéale, sont pratiquées selon les modalités suivantes :

— Premier jour : une injection de 0,1 ml. de sérum ou de soluté physiologique ; 60 minutes plus tard, nouvelle injection de 0,1 ml.

— Sixième jour : une injection de 0,3 ml. de sérum ou de soluté physiologique ; deux heures après, nouvelle injection de 0,3 ml.

Les souris ainsi préparées reçoivent, par tubage gastrique, une suspension d'œufs dont la richesse est déterminée par numération en cellule de Nageotte. Dans ces conditions, 138 œufs en moyenne sont donnés à chaque souris le 3<sup>e</sup> jour et 100 œufs leur sont administrés les 9<sup>e</sup>, 10<sup>e</sup>, 11<sup>e</sup> et 12<sup>e</sup> jours. Vingt et un jours après le début de l'infestation, toutes les souris ont des œufs d'*Hymenolepis nana* dans leurs selles, mais les souris témoins (injection de soluté physiologique) hébergent en moyenne 16 vers, tandis qu'on prélève en moyenne 42 Cestodes dans l'intestin des souris épreuves (injection de sérum).

Le sérum de rat « immunisé » ne paraît donc avoir aucun effet protecteur sur la souris à l'égard d'une infection ultérieure par *Hymenolepis nana*, le nombre de vers trouvés chez les animaux épreuves étant même supérieur à celui ayant évolué chez les animaux témoins. Ces résultats sont comparables à ceux qu'Egerton et Hansen (5) ont obtenus en soumettant des poussins à des injections intra-péritonéales d'immunsérum contre *Ascaridia galli* ; on peut admettre la présence, dans le sérum, de facteurs favorables à l'évolution des vers dans l'organisme de l'hôte.

De même que les réactions sérologiques, les tests de séro-protection ne permettent pas de mettre en évidence d'anticorps dans le sérum.

### III. Discussion : Facteurs de la résistance acquise des souris à l'égard d'*Hymenolepis nana*

Dans un premier chapitre, nous avons suivi l'évolution du parasitisme marquée par deux faits dominants :

- Discontinuité du parasitisme ;
- Fréquence progressivement décroissante du parasitisme avec l'âge.

Le deuxième chapitre a été consacré aux réactions des rongeurs consécutives au parasitisme :

- Eosinophilie évoluant selon la courbe générale des éosinophilies parasitaires ;
- Acquisition d'une immunité partielle par injection parentérale d'extraits d'*Hymenolepis* ;
- Impossibilité de mettre des anticorps en évidence.

En confrontant et en interprétant ces faits, nous essayerons de dégager les facteurs qui conditionnent l'évolution du parasitisme par *Hymenolepis nana* chez la souris.

#### 1° Discontinuité du parasitisme.

La disparition spontanée des parasites installés lors d'une infestation peut tenir à trois causes principales :

- Mort naturelle du ver, lequel est secondairement expulsé ;
- Remaniements anatomiques ou physiologiques incompatibles avec la vie du parasite ;
- Immunité spécifique élaborée au cours du parasitisme.

Chacune de ces causes va être discutée à la lumière des faits apportés au cours de ce travail.

##### a) MORT NATURELLE DU PARASITE

On ne sait rien sur la durée de vie d'*Hymenolepis nana*. Les chiffres avancés ne pourraient être acceptés sans critiques que si le parasite n'était soumis de la part de l'hôte à aucune action qui lui soit contraire. Or, *a priori*, rien ne permet de l'affirmer. On délimite la durée du parasitisme, mais pas celle du parasite, et le problème est de savoir si la mort du parasite met un terme au parasitisme ou si, au contraire, le parasitisme met un terme à la vie du parasite. Trouver la solution, c'est connaître les facteurs que nous recherchons.

Que la mort du ver soit naturelle ou provoquée, le fait capital est la discontinuité du parasitisme : trois mois après le début de l'infestation, toutes les souris sont déparasitées, tout en restant susceptibles de se réinfester dans une forte proportion.

Or, cette discontinuité va à l'encontre des possibilités d'auto-infestation et de réinfestations qui sont continues dans nos élevages et accentuées par la contamination massive que nous avons réalisée. Cette auto-contamination est d'ailleurs illustrée par la courbe de l'éosinophilie, sur laquelle nous reviendrons, où l'on constate une nouvelle ligne ascendante peu de temps après l'élimination des Ténias, sans qu'eût été renouvelée l'infestation expérimentale. En conséquence de cette continuité dans l'infestation, le parasite doit succéder au parasite et le parasitisme être continu. Puisqu'il n'en est pas ainsi, c'est que le milieu offert par l'hôte a changé. Il y a donc lieu de préciser la nature de ces transformations.

b) TRANSFORMATIONS ANATOMIQUES OU PHYSIOLOGIQUES  
DU MILIEU HÔTE

Les travaux de Larsh (10), relatifs à l'incidence de la durée du transit intestinal sur l'intensité du parasitisme, ceux de Read (15), sur l'intervention des enzymes digestifs et des sels biliaires dans la dévagination du *Cysticercoides*, les expériences de Beck (2), sur le rôle des hormones, apportent des arguments à cette hypothèse.

Toutefois, l'influence de ces remaniements est discutable, bien que nos expériences ne permettent pas de la nier. En effet, les changements anatomiques ou physiologiques qui accompagnent le vieillissement peuvent entraîner l'élimination du ver et expliquer l'absence d'une réinfestation. Mais ils ne permettent pas de comprendre que des souris ainsi déparasitées peuvent immédiatement se réinfester dans la proportion de 70 %. Si les transformations physiologiques subies par l'organisme avec l'âge ont une valeur d'interprétation négligeable, par contre on peut concevoir que le parasite détermine, par sa présence, une réaction de défense aspécifique et soit ainsi éliminé.

c) IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE ÉLABORÉE AU COURS DU PARASITISME

A ce sujet, nous retiendrons particulièrement les travaux de Hearin et de Hunninen. D'après Hearin (7), l'ingestion d'œufs d'*Hymenolepis* par la souris engendre 12 heures plus tard une résistance qui s'oppose à une surinfestation ; l'immunité acquise est très élevée. Ces auteurs expliquent par des phénomènes immunitaires l'absence de surinfection.

L'existence de cet état d'immunité est démontrée par nos expériences d'infestation de jeunes souris, préalablement soumises à des injections intra-péritonéales d'extraits d'*Hymenolepis*.

Mais, nos essais de séro-protection ont échoué et les réactions sérologiques ne nous ont pas permis de déceler d'anticorps, tant chez des animaux naturellement infestés que chez d'autres soumis à des injections antigéniques. Nous ignorons donc quel est le support de l'immunité développée par les souris à l'égard du ténia nain. Les travaux de Hearin et de Hunninen, en insistant sur la rapidité avec laquelle se développe la résistance (12 heures pour Hearin), laissent prévoir l'intervention de facteurs autres que les anticorps, lentement élaborés.

2° Fréquence décroissante du parasitisme avec l'âge.

Il ne nous a pas été possible de vérifier l'état de résistance présenté par les souris, selon Shorb (16) et Larsh (9), avant et aussitôt

après le sevrage, pendant une période de 37 à 41 jours après la naissance. Aucune contamination n'a été tentée pendant l'allaitement et celle réalisée sur des souris de 20 à 25 jours a réussi à les parasiter toutes, 10 % d'entre elles ayant, toutefois, manifesté une résistance partielle. Celle-ci s'est traduite par un parasitisme dans lequel le ver n'atteint pas sa maturité sexuelle. Les souris présentant cette résistance partielle sont tout particulièrement aptes à développer une résistance totale. Cette particularité pourrait traduire un état d'immunité passive transmise par la mère à sa descendance, selon l'hypothèse de Shorb et Larsh. On peut aussi l'interpréter par le jeu des facteurs anatomiques et physiologiques, dont le déterminisme pourrait être génétique.

Le caractère progressif de la résistance, tel que, sur 100 souris réceptives à 3 semaines, 70 sont susceptibles d'être réinfestées immédiatement après s'être débarrassées de la première infestation, 20 se parasitent à 6 mois et 10 à 10 mois, peut s'expliquer par les modifications anatomiques et physiologiques qui apparaissent au cours du vieillissement, aussi bien que par un état d'immunité conféré par le parasitisme, état dont nos expériences démontrent la réalité sans pouvoir en préciser le mécanisme. Il s'agit toutefois d'une immunité faible qui permet de concevoir l'impossibilité d'une surinfestation et détermine peut-être l'expulsion du parasite. Mais l'immunité élaborée au cours d'une première infestation ne suffit pas à empêcher une nouvelle contamination, susceptible de se produire dans un pourcentage élevé d'animaux. Cette réinfection semble possible dès l'expulsion du ver lors de la primo-infection, ainsi qu'en témoigne l'évolution de la courbe éosinophilique qui remonte au 98<sup>e</sup> jour de l'expérimentation pour décrire un nouveau clocher dont le sommet se situe trois semaines plus tard. Cette remontée de l'éosinophilie va de pair avec la disparition des œufs dans les selles des souris parasitées ; ensuite, elle évolue selon une courbe superposable à celle décrite lors de la première infestation. La simultanéité de la disparition du parasitisme et de la nouvelle poussée éosinophilique peut être interprétée comme la manifestation d'une réinfestation ; celle-ci est possible, car la résistance qui se développe au cours d'une première infestation cesse avec l'expulsion du parasite.

Au cours des réinfestations successives, la résistance s'intensifie et se traduit par une diminution considérable du nombre des souris réceptives.

Ainsi, il s'agirait d'une résistance faible, seulement efficace pendant l'infection lors de la première contamination, plus durable par suite des réinfestations successives, mais susceptible de disparaître soit spontanément, soit sous l'influence de facteurs intercurrents.

Pour dissocier la part qui revient aux transformations anatomiques et aux modifications physiologiques évoluant avec l'âge, de celle relevant de l'immunité spécifique élaborée au cours des infestations successives, il est nécessaire de contaminer des souris âgées n'ayant eu aucun contact avec le parasite. Ceci suppose la réalisation d'élevages conditionnés permettant de contrôler la contamination des rongeurs. Mais il ne faut pas oublier qu'*Hymenolepis nana* peut, chez son hôte, évoluer de deux façons : a) infestation par les œufs avec existence d'une phase larvaire à localisation tissulaire précédant la localisation cavitaire de l'adulte ; b) infestation par certains Arthropodes avec localisation cavitaire immédiate.

En contrôlant le parasitisme des rongeurs, il sera possible de dissocier ces deux cycles et, par conséquent, de dissocier l'immunité d'origine larvaire de celle qui peut être attribuée à l'adulte.

#### CONCLUSIONS

1° A l'âge de trois semaines, toutes les souris mises en expérience (120) ont pu être parasitées par *Hymenolepis nana* en ingérant des œufs provenant de selles de souris hébergeant ce Cestode. Toutefois, 89,1 % seulement d'entre elles permettent au Ténia nain d'atteindre sa maturité sexuelle. C'est dire que 10,9 % présentent une résistance naturelle relative, telle que le ver est éliminé avant de devenir adulte.

2° Au troisième mois de son évolution, le parasitisme disparaît, mais la réinfestation est possible immédiatement après l'élimination des vers de l'organisme hôte. L'infestation parasitaire a donc un caractère discontinu contraire à la continuité de la contamination.

3° La fréquence du parasitisme décroît progressivement avec l'âge au cours des réinfestations successives. Elle atteint un degré tel que 10 % seulement des souris âgées de six mois sont susceptibles d'être parasitées, aucune, à cet âge, ne permettant l'évolution du ver à l'état adulte. Cette résistance est tout particulièrement accusée pour les souris qui présentaient une résistance naturelle relative : à l'âge de quatre mois, 16,6 % d'entre elles pouvaient être parasitées, aucune ne l'étant à six mois ; dans tous les cas, le Ténia n'arrive pas au stade de maturité sexuelle.

4° Le parasitisme s'accompagne d'une éosinophilie de faible intensité, évoluant en fonction du temps, selon la loi générale valable pour les parasitoses : le maximum, peu élevé (4,8 %, 14.000 leucocytes/mm<sup>3</sup>), est atteint 20 jours après le début de l'infestation ; le retour à la normale se fait en trois mois environ.

5° Les injections antigéniques protègent partiellement les jeunes animaux (rats et souris) du parasitisme, en diminuant le nombre de vers qu'ils hébergent.

6° La technique de fixation du complément hémolytique et celle de fixation du complément congulinant ne permettent pas de déceler des anticorps dans les sérums provenant : a) de souris soumises soit à une simple infestation, soit à des réinfestations ; b) de rats ayant subi des injections d'une suspension antigénique ; c) d'un cas humain.

7° Les tests de séro-protection contre *Hymenolepis nana* échouent chez le Rat et la Souris.

8° L'opposition entre la continuité de l'infestation et la discontinuité du parasitisme d'une part, la possibilité d'une réinfestation après élimination du parasite d'autre part, ne sont concevables qu'en présence d'un organisme ayant subi des transformations temporaires.

Ces transformations peuvent correspondre à un état d'immunité faible, s'opposant à une surinfection, mais pas à une réinfestation (loi à peu près générale en parasitologie). Cet état d'immunité a pu être expérimentalement réalisé. Il ne s'oppose toutefois pas à l'intervention de remaniements physiologiques créés par la présence du parasite et qui aboutissent à son élimination en agissant comme une réaction aspécifique de défense.

9° Le caractère progressif de la résistance peut être imputable à une immunité d'intensité croissante dans un organisme sollicité par des réinfestations répétées, ce qui n'exclut pas les modifications anatomiques et physiologiques qui marquent le vieillissement.

10° Ainsi, les modalités de l'évolution du parasitisme de la souris par *Hymenolepis nana* semblent faire intervenir une immunité acquise, faible au début, s'intensifiant au cours des réinfestations successives. Les anticorps circulants n'interviendraient pas ; les remaniements anatomiques et physiologiques caractéristiques du vieillissement auraient une certaine influence. Leur mise en évidence fera l'objet de publications ultérieures.



## BIBLIOGRAPHIE

1. BAUDOIN (M.), 1960. — Contribution à l'étude de l'immunité des Rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*. Thèse Pharmacie, Bordeaux.
2. BECK (J. W.), 1952. — Effect of gonadectomy and gonadal hormones on singly established *Hymenolepis diminuta* in rat. *Exp. Parasit.*, 1, 109-117.
3. CHANDLER (A. C.), 1943. — Studies on the nutrition of tapeworms. *Amer. J. Hyg.*, 37, 121-130.
4. DONCKASTER (R.), 1958. — Contribucion al estudio de la infeccion par *Hymenolepis nana*. *Bol. Chileno de Parasit.*, 1, 9-10.
5. EGERTON (J. R.) et HANSEN (M. F.), 1955. — Immunity and tolerance of chickens to the roundworm, *Ascaridia galli*. *Exp. Parasit.*, 4, 335-349.
6. FRYE (W. W.), 1955. — Nutrition and intestinal parasitism. *Amer. N.Y. Ac. Sc.*, 63, 175-185.
7. HEARIN (J. J.), 1941. — Studies on the acquired immunity to the dwarf tapeworm, *Hymenolepis nana* var. *fraterna* in the mouse host. *Amer. J. Hyg.*, 33, 71-87.
8. HUNNINEN (A. V.), 1936. — Studies on the life history and host-parasite relations of *Hymenolepis fraterna* in white mice. *J. Parasit.*, 22, 84-87.
9. LARSH (J. E.), 1942. — Transmission from mother to offspring of immunity against the mouse Cestode *H. nana* var. *fraterna*. *Amer. J. Hyg.*, 36, 187-194.
10. LARSH (J. E.), 1947. — The relationship in mice of intestinal emptying time and natural resistance to *Hymenolepis*. *J. Parasit.*, 33, 79-84.
11. LAVIER (G.), 1955. — Les éosinophiles parasitaires. *Rev. Path. Comp.*, 55, 1280-1295.
12. OQUINEMA (F.), 1929. — Etude sur *Hymenolepis nana* en Espagne. *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, 8, 469-475.
13. PAUTRIZEL (R.) et BAILENGER (J.), 1961. — Diagnostic immunologique de l'hydatidose. *Ann. Biol. Clin.*, 19, 243.
14. PAUTRIZEL (R.), BAILENGER (J.) et CAILLAU (M.), 1960. — La distomatose, II. Diagnostic sérologique. *Rev. Méd. Hyg. Soc.*, 8, 618.
15. READ (C. P.), 1955. — Intestinal physiology and the Host-Parasite relationship. Some physiological aspects and consequences of parasitism. *Rutgers U.P.*, 27-43.
16. SHORB (D. A.), 1933. — Host-parasite relations of *Hymenolepis* in the rat and the mouse. *Amer. J. Hyg.*, 18, 74-113.

(Laboratoire de Parasitologie et Laboratoire d'Immunologie

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Bordeaux

et Institut National d'Hygiène [P<sup>r</sup> BUGNARD], Paris)