

Etude de l'immunité des Rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*

II. Facteurs spécifiques et aspécifiques

Par J. BAILENGER, G. ROGER et R. PAUTRIZEL

Lors d'un travail précédent (4), nous avons précisé certaines particularités de l'immunité des rats et des souris à l'égard d'*Hymenolepis nana*. Parmi les résultats acquis, une opposition entre le comportement des souris âgées de trois semaines et celui des souris de plus de six mois impose une étude expérimentale destinée à nous faire connaître les facteurs en permettant l'explication. A l'âge de trois semaines en effet, toutes les souris sont réceptives à *Hymenolepis nana*, mais 10,9 % d'entre elles présentent toutefois une résistance naturelle relative qui se traduit par l'élimination des vers avant qu'ils n'acquissent leur maturité sexuelle. Avec l'âge et au cours des réinfestations successives, la résistance s'accroît progressivement tel que 90 % des souris âgées de six mois ne peuvent être parasitées. Les 10 % restantes sont susceptibles de se parasiter, mais sans que le ténia atteigne l'état adulte.

Ainsi, les souris développent avec l'âge une immunité, mais les conditions expérimentales réalisées ne permettent pas de dire s'il s'agit d'une résistance résultant des transformations anatomiques, physiologiques et biochimiques qui accompagnent le vieillissement.

Ce travail s'attache à dégager certains facteurs aspécifiques et spécifiques dont l'influence peut être envisagée pour expliquer la résistance développée avec le temps par des souris soumises à des réinfestations continues.

Les chapitres suivants sont donc envisagés :

1° Influence des hormones génitales dont la participation paraît essentielle dans les remaniements que subit l'organisme avec l'âge.

2° Essais d'immunisation de jeunes souris par les antigènes d'*Hymenolepis* en dissociant les antigènes somatiques des antigènes métaboliques et en considérant dans chaque cas la possibilité de modifications apparues au cours du transit intestinal.

3° Action, sur des souris devenues résistantes, de doses fortes et répétées de cortisone dont l'effet inhibiteur à l'égard des facteurs cellulaires de défense est généralement admise.

I. — Influence des hormones génitales sur la réceptivité des souris impubères à l'égard d'*Hymenolepis nana*

Parmi les facteurs aspécifiques susceptibles d'intervenir dans les modifications du parasitisme par les vers, au cours du vieillissement de l'hôte, les hormones sexuelles retiennent très tôt l'attention. Les expériences réalisées pour vérifier cette hypothèse née de constatations empiriques sont relativement récentes. Elles portent plus particulièrement sur *Ascaridia galli* [Todd et Hollingsworth (20) ; Sadun (16) ; Ackert et Dewhirst (1)] et *Hymenolepis diminuta* [Beck (6, 7) ; Addis (2)], mais nous n'en avons relevé aucune qui soit relative à *Hymenolepis nana*.

Nos expériences ont trait à l'action des hormones génitales (testostérone et œstradiol) sur l'installation et le développement d'*Hymenolepis nana* chez des souris mâles et femelles venant d'être sevrées.

1° ACTION DU PROPIONATE DE TESTOSTÉRONE SUR LE PARASITISME DES SOURIS MÂLES.

A un lot de 24 souris mâles, on injecte, par voie sous-cutanée, 1 mg de propionate de testostérone en solution dans 0,04 ml. d'huile d'olive neutralisée et stérilisée. Les injections sont faites quotidiennement pendant deux semaines, puis tous les deux jours les troisième et quatrième semaines. Cette diminution de la fréquence des injections tient compte de l'évolution physiologique des animaux dont la maturité sexuelle se situe aux environs du 2^e mois.

Un lot témoin de 25 souris reçoit le solvant (huile d'olive neutralisée et stérilisée) dans les conditions précédemment décrites.

Une semaine après le début du traitement hormonal, les souris sont infestées par tubage gastrique avec une suspension aqueuse correspondant à environ 300 œufs d'*Hymenolepis nana*.

Chez toutes les souris en expérience, soumises ou non au traitement hormonal, les parasites se sont développés. Mais le propionate de testostérone, aux doses injectées, a intensifié le parasitisme. En effet, 43 % des souris traitées hébergent plus de 20 *Hymenolepis* d'une longueur supérieure à trois centimètres, tandis que 8 % seulement des souris témoins manifestent un parasitisme comparable. L'action favorisante du propionate de testostérone, dans les conditions de notre expérience, se traduit en outre, par un accroissement sensible du nombre moyen des Cestodes par souris : 31 contre 6 (tableau I).

2° ACTION DU BENZOATE D'ŒSTRADIOL SUR LE PARASITISME DES SOURIS FEMELLES.

Les souris femelles sont réparties en 2 lots : 22 animaux reçoivent, par voie sous-cutanée, une unité ratte de benzoate d'œstradiol en solution dans 0,04 ml. d'huile d'olive neutralisée et stérilisée. A un lot témoin de 24 souris, on injecte 0,04 ml. de solvant (huile d'olive neutre et stérile).

Les injections sont faites quotidiennement pendant deux semaines, puis tous les 2 jours

TABLEAU I

Action du propionate de testostérone sur le parasitisme des souris mâles

1° Coprologie.

Temps après l'infestation (jours)	Souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	13/14 92,8 %	20/25 80 %
28	14/14 100 %	25/25 100 %

2° Autopsie.

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris parasitées	Nombre de souris ne présentant que des vers > à 3 cm			Nombre de souris possédant de nbx vers < à 1 cm et > à 3 cm	Nombre moyen de grands vers
			— de 10	10 à 20	+ de 20		
Epreuve	14	14 100 %	2 14,3 %	2 14,3 %	6 43 %	4 8,6 %	31
Témoin	25	25 100 %	12 48 %	5 28 %	2 8 %	6 24 %	6

les troisième et quatrième semaines. Cette variation des rythmes des injections est adoptée pour tenir compte de l'évolution physiologique des animaux.

Une semaine après le début du traitement hormonal, les souris sont infectées par tubage gastrique avec une suspension aqueuse correspondant à environ 500 œufs d'*Hymenolepis nana*.

Chez toutes les souris en expérience, les parasites se sont développés. Mais le traitement hormonal, dans les conditions où il a été effectué, semble avoir diminué le parasitisme en ce sens que 31,2 % des souris soumises aux injections du benzoate d'œstra-

diol hébergent plus de 10 vers, tandis que ce pourcentage monte à 66,8 chez les témoins. Cette action inhibitrice se traduit par une diminution du nombre moyen des Cestodes par souris : six contre quinze chez les témoins (Tableau II).

3° DISCUSSION.

Dans les conditions de notre expérience (âge des souris, doses hormonales et rythme d'administration), le benzoate d'œstradiol injecté aux souris femelles et le propionate de testostérone injecté aux souris mâles ont des effets contraires sur le parasitisme par *Hymenolepis nana* : l'hormone femelle diminue le parasitisme ; l'hormone mâle l'intensifie.

Ces différences sont encore plus évidentes en comparant le parasitisme des souris mâles à celui des femelles soumises aux traitements hormonaux : on dénombre moins de 10 vers chez 14,3 % seulement des souris mâles contre 68,4 % des souris femelles et plus de 20 vers chez, respectivement, 71,6 et 26 % des rongeurs. Les écarts entre ces pourcentages acquièrent une signification encore plus grande si on tient compte des conditions d'infestation : le nombre d'œufs administrés aux mâles était de 300 contre 500 aux femelles.

Ces résultats sont partiellement en accord avec ceux de Beck et d'Addis (2,7) lesquels ont traité à l'influence des hormones sexuelles sur *Hymenolepis diminuta* chez le rat. Ces auteurs, prenant comme test l'élimination des œufs et la taille des vers parasites d'hôtes immatures castrés ou soumis à des injections hormonales, notent que la testostérone stimule la croissance d'*Hymenolepis diminuta* et sa reproductivité au contraire de l'hormone femelle qui ne semble pas avoir de retentissements.

En effet, Beck (6) note que la production d'œufs de ce *Ténia* est plus grande chez les mâles que chez les femelles, bien que les vers soient de dimension sensiblement égale. Ultérieurement (7), cet auteur démontre que cette production d'œufs est abaissée par la castration et ramenée au niveau antérieur par injection quotidienne de 1 mg de testostérone. Prenant comme test non pas l'élimination des œufs, mais la taille des vers, Addis (2) observe une réduction des dimensions, réduction consécutive à l'immaturité de l'hôte ou secondaire à la castration, inhibition à laquelle il est possible de remédier par injection quotidienne de testostérone.

Au contraire des mâles, Beck et Addis notent que l'immaturité ou la castration des femelles ne retentit pas sur la dimension des *Hymenolepis diminuta* qui les parasitent.

Ainsi, la testostérone semble stimuler la croissance d'*Hymenolepis diminuta* et d'*Hymenolepis nana*, en même temps que leur reproductivité, au contraire de l'œstrogène qui ne semble pas avoir de retentissements.

Sadun (16) travaillant sur *Ascaridia galli* note l'importance de la quantité d'hormone : des doses modérées de testostérone ou d' α œstradiol augmentent la résistance des poussins à l'infection par *Ascaridia*, la testostérone conduisant toutefois à la présence des vers plus grands que la normale et le benzoate d'œstradiol au résultat inverse : la testostérone à doses fortes, diminue la résistance à *Ascaridia*.

Qu'il s'agisse d'*Ascaridia galli* chez le poussin, d'*Hymenolepis diminuta* chez le rat, d'*Hymenolepis nana* chez la souris, ces parasites ne semblent pas insensibles aux hormo-

TABLEAU II

Action du benzoate d'œstradiol sur le parasitisme des souris femelles

1° Coprologie.

Temps après l'infestation (jours)	Souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	18/19 94,7 %	18/21 85,7 %
28	19/19 100 %	21/21 100 %

2° Autopsie.

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris parasitées	Nombre de souris ne présentant que des vers			Nombre de souris possédant de nombreux vers ∠ à 1 cm et ∠ à 3 cm	Nombre moyen de grands vers
			— de 10	10 à 20	+ de 20		
Epreuve	19	19 100 %	13 68,4 %	1 5,2 %	3 15,6 %	2 10,4 %	6
Témoin	21	21 100 %	7 33,3 %	3 14,3 %	6 28,7 %	5 23,8 %	15

nes génitales qui agissent par un mécanisme pour lequel nous sommes réduits à des hypothèses et dont la connaissance nous permettrait peut-être d'expliquer les divergences signalées.

L'action observée est indiscutablement la résultante de celles qui s'exercent sur le parasite d'une part et sur l'hôte d'autre part.

Les expériences *in vitro* faites sur *Hymenolepis* par Berntzen (8) et sur *Rhabditis* par Thomas (19) insistent sur l'influence favorisante de la testostérone sur la croissance et la maturation parasitaire.

Par ailleurs, l'imprégnation hormonale est génératrice de remaniements dans l'organisme de l'hôte. Ces remaniements sont complexes, d'autant plus que ceux créés expérimentalement sont loin de reproduire l'équilibre physiologique. L'introduction brutale dans un organisme qui n'y est pas préparé ne saurait être superposée aux conditions naturelles. La meilleure preuve en est la mort de 41 % des souris que nous avons traitées par la testostérone, en regard d'une mortalité négligeable chez les témoins et les lots soumis à l'action de l'œstradiol (4 %). Cette souffrance due à une cause indéterminée n'est peut-être pas totalement étrangère à l'accroissement de la densité parasitaire.

Ainsi, cette expérience ne résout pas le problème de l'influence hormonale sur le parasitisme. Elle nous permet seulement d'écrire que, dans les conditions de nos expériences, posologie notamment, la testostérone apparaît comme un facteur favorisant du parasitisme des souris par *Hymenolepis nana* et l'œstradiol comme un facteur inhibiteur.

II. — Immunisation provoquée par les antigènes métaboliques et par les antigènes somatiques

On admet aujourd'hui que parmi les anticorps élaborés par un organisme en réponse à un parasite donné, certains seulement participent à sa défense. Les antigènes auxquels ils correspondent ont reçu le qualificatif de « fonctionnel ». Certains auteurs attribuent un rôle prépondérant dans ce sens aux antigènes présents dans les produits de l'activité du parasite et plus particulièrement dans les sécrétats et excréments. Il s'agit des antigènes métaboliques en opposition aux antigènes somatiques qui participent à la constitution du corps parasitaire.

L'isolement de ces deux catégories antigéniques est délicat. L'obtention des antigènes métaboliques pose le problème d'une culture pure. La découverte des antibiotiques apporte le plus souvent une solution à la condition de stérilité. Mais la véritable difficulté actuelle est de maintenir le ver dans un état d'activité normal, c'est-à-dire celui qu'il présente au sein du milieu hôte. Quant aux antigènes somatiques, il est très difficile de les obtenir exempts des « antigènes fonctionnels ». Les sécrétats et excréments diffusent dans le milieu, mais il doit aussi s'en adsorber à la surface des téguments tout comme la sueur et le sébum forment une couche sur notre peau. Les lavages répétés risquent de les éliminer en grande partie mais pas forcément en totalité.

Nous avons essayé de préciser la part qui revient à chacune de ces deux catégories antigéniques dans l'immunité des souris à l'égard d'*Hymenolepis nana*, mais pour toutes les raisons que nous venons d'indiquer, notre expérimentation n'a pas une valeur absolue ; elle n'est pas à l'abri des critiques malgré les efforts réalisés pour se placer dans les meilleures conditions.

De plus, tenant compte de la localisation intestinale du parasite et par suite des possibilités de transformations des constituants ou des métabolites vermineux tels que les motifs antigéniques mis à la disposition des organes de défense différent de ceux qui sont libérés dans l'intestin, nous avons introduit les réactifs antigéniques dans l'organisme des souris par deux voies : l'une gastrique, l'autre parentérale. Le tubage

gastrique a été choisi pour introduire les antigènes vermineux — fonctionnels et somatiques — dans l'intestin afin de les soumettre aux conditions naturelles susceptibles de les remanier. Ce choix est imparfait car il ne nous place pas dans les conditions physiologiques lesquelles ne font pas intervenir le suc gastrique. Toutefois, il faut noter en faveur de notre protocole expérimental la rapidité d'évacuation gastrique qui caractérise la souris.

1° ANTIGÈNES MÉTABOLIQUES.

La conception selon laquelle les excréments et sécréments des vers parasites agissent comme antigène dans la stimulation des réponses immunitaires de l'hôte, a pour point de départ les travaux de Taliaferro et Sarles (17, 18) sur *Nippostrongylus muris*; ces auteurs notent l'apparition de précipités autour de tous les orifices du corps (bouche, anus, pores excréteurs) et tout le long de l'intestin des vers mis au contact des anticorps homologues.

Cette hypothèse fut le point de départ d'expériences d'immunisation artificielle destinées à la vérifier. Parmi les différentes méthodes décrites, nous nous sommes inspirés de celles que Campbell (9) et Chipman (10) proposent pour étudier le rôle antigénique des produits de sécrétion et d'excrétion de *Trichinella spiralis* dans l'immunisation expérimentale de la souris. Toutefois, un problème primordial nécessitait une solution : la mise au point d'une technique permettant une survie satisfaisante d'*Hymenolepis nana* dans des conditions aseptiques. Après de nombreux essais, le protocole suivant a été adopté :

Les *Hymenolepis* sont récupérés par perfusions de liquide de Ringer dans les 15 à 20 derniers centimètres d'intestin grêle précédemment isolés. On les lave ensuite dans plusieurs bains de liquide de Ringer additionné de pénicilline (400.000 U.O. dans 500 ml) et de streptomycine (125 mg dans 500 ml).

Ainsi traités, les vers sont introduits par lots de 5 à 10, selon leur longueur, dans 10 ml. environ d'un milieu hydrolysé de caséine sérum de veau (1), réparti en tubes d'Yvan Hall.

(1) Ce milieu est composé comme suit :

— Hydrolysé de caséine : Protéolysat 0,5 g ; Glutamine 0,15 ; cystéine (Chl) 0,01 g ; vit. C 0,05 g.

— Solution de Earle : ClNa 6,8 g ; ClK 0,4 g ; Cl₂Ca anhydre 0,2 g ; SO₄Mg, 7 H₂O 0,2 g ; PO₄H₂Na, 2H₂O 0,2 g ; glucose 1 g ; Eau distillée 88 ml.

— Solution d'acide folique : acide folique 0,010 g ; CO₂HNa 0,280 g ; eau distillée 100 ml.

— Solution de biotine : Biotine 0,010 g ; Eau distillée 100 ml.

— Solutions de vitamines B : Thiamine (Chl) 0,100 g ; adénine 0,100 g ; Niacine 0,100 g ; panthoténate de calcium 0,100 g ; acide para-amino-benzoïque 0,100 g ; choline (Chl) 0,100 g ; Riboflavine 0,010 g ; eau distillée 100 ml.

— Sérum de veau.

— Solution bicarbonatée : CO₂HNa 11,5 g ; rouge de phénol 0,10 g ; eau distillée 220 ml.

Préparation : Dissoudre les constituants de l'hydrolysé de caséine dans la solution de Earle (poids et volumes indiqués au paragraphe des composants) ; ajouter les solutions d'acide folique (1 ml), de biotine (10 ml) et de vitamines B (1 ml).

Mélanger 50 ml du milieu ainsi obtenu à 100 ml de sérum de veau, 430 ml d'eau distillée et ajouter la solution bicarbonatée. 100 ml de ce milieu sont enrichis par addition de 0,5 ml d'une solution d'un extrait de levure.

100 ml du milieu ainsi préparé sont additionnés au moment de l'emploi, de 80.000 U.O. de pénicilline et de 25 mg de streptomycine.

En anaérobiose et à 37° C, les vers provoquent rapidement l'acidification du milieu tandis qu'une volumineuse bulle gazeuse se constitue.

L'incubation est limitée à 24 heures. Cette durée, évidemment brève, ne permet certes pas une concentration élevée des métabolites, mais elle a été choisie ainsi pour limiter la libération d'antigènes somatiques par lyse des proglottis parvenus à maturité. L'antigène est préparé à partir du milieu centrifugé : au sein de la fraction destinée à être injectée, on réalise un précipité colloïdal d'hydroxyde d'aluminium, par additions répétées d'un ml. d'une solution aqueuse à 1 p. cent d'alun de potasse, additions suivies d'une neutralisation par de la soude N, ainsi jusqu'à doubler le volume initial du milieu de survie ; la fraction destinée à être administrée par tubage gastrique est diluée par un égal volume d'eau chlorurée isotonique.

L'immunisation n'a de valeur et d'intérêt que dans la mesure où elle porte sur des animaux à l'abri de toute infestation naturelle.

Tout en regrettant de ne pas disposer d'un élevage entretenu à l'abri de toute contamination, ce qui serait la meilleure des garanties, nous avons utilisé des souris mâles venant d'être sevrées (2 à 3 semaines) étant généralement admis que la mère confère à sa portée une immunité à l'égard d'*Hymenolepis nana*, soit *in utero*, soit par le lait. De plus, chaque souris est passée individuellement au D.D.T. par brossage et les lots sont isolés dans des cuves de verre recouvertes d'un treillis de nylon à mailles très fines. Ces deux précautions sont destinées à éviter la contamination directe des Rongeurs par les formes « cysticercoïdes » d'*Hymenolepis nana* qui évoluent chez divers arthropodes et notamment chez les puces.

Les souris sont réparties en quatre lots :

— Un premier lot de 15 Rongeurs reçoit, par voie sous-cutanée, l'antigène adsorbé sur alun. Le traitement est poursuivi pendant trois semaines, à raison de trois injections par semaine. Les volumes administrés lors de chaque injection étant de 0,20 ml la première semaine ; 0,25 ml la deuxième et 0,30 la troisième.

— Lot témoin de 15 souris auxquelles on injecte, selon le protocole précédent, le milieu neuf traité par l'alun de potasse et la soude dans les mêmes conditions que le milieu où les vers ont déversé leur produit de métabolisme.

— Troisième lot : A 10 souris on fait ingérer, par tubage gastrique, le milieu de survie renfermant les métabolites, dilué par un égal volume d'eau physiologique. Ceci à raison de trois ingestions par semaine pendant trois semaines : 0,20 ml étant administré chaque fois la première semaine ; 0,25 ml la deuxième et 0,30 ml la troisième.

— Quatrième lot : 10 souris témoins reçoivent les mêmes quantités de milieu neuf additionné d'un égal volume d'eau physiologique.

Une semaine après les dernières administrations, parentérales et buccales, les quatre lots sont soumis, selon le cas, à une injection (lots 1 et 2) ou à une ingestion (lots 3 et 4) de rappel avec 0,30 ml de réactif. Ce traitement de rappel étant effectué vingt minutes après une piqûre sous-cutanée d'un antihistaminique (prométhazine), à raison de 20 mg par kilo d'animal.

RÉSULTATS.

Les tableaux III et IV résument ces résultats.

Les antigènes métaboliques administrés par voie buccale semblent inhiber le para-

TABLEAU III

**Résultats chez les souris traitées par les antigènes métaboliques
par voie buccale**

1° *Coprologie.*

Temps après l'infestation (jours)	Souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	7/9 77,7 %	8/10 80 %
28	7/9 77,7 %	9/10 90 %

2° *Autopsie.*

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris ne présentant pas de vers	Souris présentant des vers > à 6 cm (a)			Souris présentant des vers de 1 à 6 cm (b)			Souris présentant (a) ou (b)	Nombre moyen de vers à 1 cm
			— de 10	10 à 20	+ de 20	— de 10	10 à 20	+ de 20		
Epreuve	9	1 11 %	2 25%			4 50%	1 12,5%		1 12,5 %	7
Témoin	10	0	8 80%	2 20%						5,9

sitisme, si l'on en juge d'après le nombre de souris parasitées, mais plus encore par le fait que 62,5 pour cent ne présentent que des vers grêles et courts, tandis que toutes les souris du lot témoin hébergent des *Ténia* de grande dimension. Cette inhibition n'atteint pas le nombre moyen de vers trouvés dans l'iléon des animaux.

TABLEAU IV

**Résultats chez les souris traitées par les antigènes métaboliques
par voie parentérale**

1° Coprologie.

Temps après l'infestation (jours)	Souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
17	2/3 66,6 %	14/14 100 %

2° Autopsie.

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris ne présentant pas de vers	Souris présentant des vers > à 6 cm (a)			Souris présentant des vers de 1 à 6 cm (b)			Souris ne présentant que des vers < à 1 cm (c)	Nombre moyen de vers à 1 cm
			— de 10	10 à 20	+ de 20	— de 10	10 à 20			
Epreuve	3	0				1 33,3 %	1 33,3 %		1 33,3 %	7
Témoin	14	0	7 50 %	4 28,5 %	3 21,5 %					13

Une épidémie qui s'est déclarée une dizaine de jours après l'infestation dans le lot traité par voie parentérale, nous empêche d'avoir des résultats sur un nombre valable de souris : 3 seulement ayant pu être autopsiées. Toutefois, tandis que les 15 souris

témoins hébergent en moyenne 13 vers de grande longueur, tous les Cestodes isolés des 3 souris, soumises à une tentative d'immunisation, sont de petite dimension.

2° ANTIGÈNES SOMATIQUES.

Le réactif antigénique est préparé à partir d'*Hymenolepis nana* soigneusement lavés (1,864 g de vers humides) et soumis à congélations et décongélations successives, complétées d'un broyage au mortier jusqu'à obtention d'une pâte homogène qui est mise au contact de 70 ml de soluté de Cl Na à 8,5 p. mille. Le liquide est opalescent, mais la centrifugation ne lui enlève qu'une fraction infime de particules. Cette solution est divisée en deux volumes égaux, chacun étant soumis à un traitement particulier selon la voie d'administration à laquelle il est destiné : dilution par un égal volume d'eau physiologique (voie buccale) ; dilution au-demi avec formation d'un précipité d'hydroxyde d'aluminium selon le procédé décrit au chapitre précédent relatif aux antigènes métaboliques (voie parentérale).

Le problème d'une immunisation conduite sur des animaux à l'abri de toute contamination naturelle a posé les mêmes difficultés que nous avons résolues de la même façon que celle exposée pour l'immunisation par les antigènes métaboliques : animaux juste sevrés, brossés individuellement au D.D.T. et isolés dans des cages de verre fermées par un treillis de nylon à fines mailles.

Les souris âgées de trois semaines sont réparties en quatre lots :

— Premier lot : 15 souris reçoivent l'antigène somatique par voie parentérale. Nous pratiquons trois injections par semaine pendant trois semaines, à raison de 0,20 ml la première ; 0,25 ml la deuxième et 0,30 la troisième ;

— Deuxième lot : Parallèlement, 15 souris sont traitées par de l'eau physiologique additionnée d'un égal volume d'une solution aqueuse à 1 % d'alun de potassium neutralisée par la soude N. Elles servent de témoins ;

— Troisième lot : 10 souris reçoivent l'antigène somatique par tubage gastrique dans les conditions suivantes : tous les deux jours 0,20 ml la première semaine, 0,25 ml la deuxième et 0,30 ml la troisième ;

— Quatrième lot : 12 souris sont traitées, en même temps, par tubage d'eau physiologique.

A la quatrième semaine, soit 8 jours après les dernières administrations parentérale et buccale, tous les animaux reçoivent en rappel 0,30 ml du réactif antigénique. Nous avons soin, vingt minutes avant cette administration, d'effectuer une injection sous-cutanée de prométhazine à raison de 20 mg par kilo d'animal.

Cinq jours après le rappel, les quatre lots sont infestés par tubage gastrique de 400 œufs d'*Hymenolepis nana*.

RÉSULTATS.

Les injections sous-cutanées répétées d'une solution d'un extrait total du corps d'*Hymenolepis nana* semblent déterminer une inhibition du parasitisme qui n'atteint pas le nombre de vers, mais se traduit par une fécondité moindre évaluée par la recherche des œufs dans les selles 21 et 28 jours après l'infestation. Elle se traduit également par

la présence de vers grêles et courts chez 3 des 10 souris en expérience alors que toutes les souris du lot témoin sont porteuses d'*Hymenolepis* de grande dimension.

TABLEAU V

**Résultats chez les souris traitées par les antigènes somatiques
par voie parentérale**

1° *Coprologie.*

Temps après l'infestation (jours)	Souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	8/10 80 %	15/15 100 %
28	9/10 90 %	15/15 100 %

2° *Autopsie.*

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris ne présentant pas de vers	Nombre de souris présentant des vers > à 6 cm (a)			Nombre de souris présentant des vers de 1 à 6 cm (b)			Nombre moyen de vers à 1 cm
			de 10 —	10 à 20 —	de 20 +	de 10 —	10 à 20 —	de 20 +	
Epreuve	10	0	4 40 %	3 30 %		2 20 %	1 10 %		8,7
Témoin	15	0	11 73,3 %	3 20 %	1 6,7 %				8,1

TABLEAU VI

**Résultats chez les souris traitées par les antigènes somatiques
par voie buccale**

1° *Coprologie.*

Temps de l'infestation (jours)	Nombre de souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	3/7 43 %	8/11 72,8 %
28	5/7 71,4 %	11/11 100 %

2° *Autopsie.*

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris ne présentant pas de vers	Nombre de souris présentant des vers > à 6 cm (a)			Nombre de souris présentant des vers de 1 à 6 cm (b)			Nombre moyen de vers à 1 cm
			de 10 —	10 à 20 —	de 20 +	de 10 —	10 à 20 —	de 20 +	
Epreuve	6	1 16,6 %	3 60 %	1 20 %		1 20 %			6,5
Témoin	11	0	11 100 %						3,5

De même que pour la voie parentérale, les ingestions répétées de broyat d'*Hymenolepis nana* semblent déterminer une inhibition du parasitisme se traduisant par les mêmes phénomènes : fécondité moindre, absence de Cestodes dans l'une des souris,

présence de vers grêles et courts en petit nombre dans une autre. A l'opposé, des vers de grande dimension ayant atteint leur maturité sont isolés de toutes les souris témoins. En outre, assez paradoxalement, celles-ci hébergent un nombre moyen de vers inférieur à celui que l'on note chez des souris ayant absorbé les antigènes somatiques.

Ces résultats sont rapportés dans les tableaux V et VI.

3° DISCUSSION.

Les broyats d'*Hymenolepis nana* et les produits de leur métabolisme administrés par voie buccale ou sous-cutanée, semblent déterminer une inhibition du parasitisme laquelle se traduit par une fécondité moindre, mais surtout par la présence de vers grêles et courts dans un pourcentage relativement élevé de souris, ce qui contraste avec les Cestodes de grande taille isolés de tous les animaux témoins. Par contre, le nombre moyen de vers est sensiblement le même quel que soit le lot considéré ; il est même inférieur chez les témoins de la série expérimentale comportant l'administration buccale de l'antigène. Cette remarque est importante, car on peut en déduire que l'inhibition n'a pas porté sur l'implantation des embryons hexacanthés non plus que sur celle des cysticercoïdes. Elle ne s'est faite sentir que sur le stade adulte dont elle a limité l'évolution. Deux explications sont possibles :

1° A la suite de nombreux auteurs, on peut admettre une variation antigénique avec les différents stades du cycle. Les antigènes du corps de l'adulte, ou élaborés par celui-ci, lui seraient spécifiques de telle sorte que les anticorps dont ils provoquent la formation seraient inefficaces sur les stades larvaires.

2° L'immunité efficace dirigée contre les formes larvaires nécessite l'intimité tissulaire réalisée au cours du développement des cysticercoïdes dans les villosités. Ceci ressort du récent travail de Heynemann (12) comparant l'immunisation qui résulte de l'infestation par les œufs à celle que provoque l'infection par les cysticercoïdes.

Ainsi, la différence serait quantitative et non qualitative. L'immunité ne serait pas spécifique du stade, mais aurait seulement un degré en rapport avec le stade : les cysticercoïdes localisés dans les tissus étant à l'origine d'une immunité plus intense que celle provoquée par les adultes vivant dans la lumière intestinale. Cette notion quantitative est d'ailleurs soutenue par divers auteurs.

La contradiction entre ces résultats et ceux que nous avons précédemment publiés n'est qu'apparente et en faveur de cette hypothèse : l'absence d'une réduction du nombre de vers que nous rapportons dans ce travail, s'oppose à la diminution sensible que nous avons obtenue (4) en utilisant des extraits vermieux délipidés, donc plus antigéniques et susceptibles de provoquer une immunité plus forte.

En terminant ce chapitre, il convient d'attirer l'attention sur le fait que la voie d'introduction ne semble pas avoir eu de répercussions sensibles sur l'élaboration d'un état de résistance. On peut rapprocher cette remarque des conclusions qu'Aikawa, Harrell et Helsabec (3) tirent de leur étude sur les effets de la digestion pepsique et tryptique vis-à-vis du pouvoir antigénique de *Trichinella spiralis* : la protéolyse ne détruit pas la réactivité des antigènes de Trichine.

III. — Influence de la cortisone sur la résistance des souris âgées à l'égard d'*Hymenolepis nana*

Afin de déterminer le mécanisme de l'immunité observée chez les Rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*, Bailenger, Baudouin et Pautrizel (4) ont recherché les anticorps dans le sérum des animaux immunisés naturellement ou expérimentalement. Les réactions de fixation du complément, en techniques d'hémolyse et de congélation ont toujours été négatives. On peut en conclure, soit que les méthodes ne sont pas adaptées, soit l'absence d'anticorps circulants. Dans cette dernière hypothèse, le mécanisme de l'immunité pourrait alors reposer sur l'intervention d'anticorps tissulaires fixés, avec une participation cellulaire.

Une telle supposition a déjà été faite par Taliaferro et Sarles (18) pour expliquer l'immunité qui se développe chez les rats contre *Nippostrongylus muris* et, plus récemment, par Larsh et Race (13), pour essayer de comprendre le mécanisme de l'acquisition, par la souris, d'une immunité contre *Trichinella spiralis*.

Cette hypothèse a été avancée par ces auteurs à la suite d'études histopathologiques effectuées lors d'infections réalisées chez des animaux normaux d'une part et immunisés d'autre part. D'autres auteurs ont essayé de l'apprécier en employant la cortisone pour modifier la phase cellulaire du mécanisme de l'immunité, car de nombreux rapports vérifient son action suppressive sur le système macrophage lymphoïde d'un grand nombre d'animaux, souris y compris.

Dans ce chapitre, nous envisageons l'action d'injections répétées de fortes doses de cortisone sur le développement d'*Hymenolepis nana*, chez des souris mâles, âgées de 6 mois qui ont acquis une résistance au cours des nombreuses infestations qu'elles ont subies. Les animaux sont infestés expérimentalement après une imprégnation de cinq jours.

Au cours d'une première expérience, 7 souris sur 12 mises en expérience sont mortes au cours des 15 premiers jours de traitement, soit au plus tard 10 jours après l'infestation. Cette mortalité peut relever de deux causes.

1° Doses élevées de cortisone : injections quotidiennes de 0,75 mg d'acétate en suspension dans de l'eau physiologique pendant la première semaine ; injection tous les 2 jours, de 0,50 mg d'hormone pendant les 2^e et 5^e semaines.

2° Nombre élevé d'œufs d'*Hymenolepis* (3 fois 500 œufs) provoquant un parasitisme intense.

Ces enseignements ont été retenus pour une 2^e expérience conduite sur 34 animaux :

18 souris reçoivent de l'acétate de cortisone par injection sous-cutanée dans la région de l'aîne, alternativement droite et gauche, dans les conditions suivantes :

- 0,500 mg tous les jours, les dix premiers jours,
- 0,125 mg les quatre jours suivants,
- 0,125 mg tous les deux jours, les 8 jours suivants.

16 souris témoins subissent des injections d'eau physiologique selon les mêmes modalités.

Après 5 jours de traitement, tous les animaux sont infestés par un seul tubage gastrique de 400 œufs.

TABLEAU VII

Action de la cortisone sur les souris mâles âgées de six mois

1° Coprologie.

Temps après l'infestation (jours)	Nombre de souris présentant des œufs dans leurs selles	
	Epreuve	Témoin
21	3/7 43 %	1/10 10 %
28	4/7 57,1 %	1/10 10 %

2° Autopsie.

Lots	Nombre de souris en expérience	Nombre de souris parasitées	Nombre de souris ne présentant que des vers > à 3 cm			Souris présentant des vers > 3 cm + de n ^o x < 1 cm	Souris ne présentant que des vers < 1 cm
			— de 10	10 à 20	+ de 20		
Epreuve	13	10 90,1 %	3 30 %	2 20 %	2 20 %	2 20 %	1 10 %
Témoin	11	8 62 %	6 75 %	1 12,5 %	1 12,5 %	0	0

Malgré les réductions de la posologie et de la dose infestante, 7 souris meurent au cours des deux premières semaines de traitement. A partir du 15^e jour, soit 11 jours après l'infestation, les souris mortes sont autopsiées, mais l'analyse fécale n'est pratiquée qu'à partir de trois semaines, ce qui explique la dissociation figurant au tableau VII, entre le nombre des souris autopsiées et celui des souris pour lesquelles les œufs ont été recherchés dans les matiè-

res fécales. Ce tableau rapporte les résultats de la 2^e série expérimentale. Ils concordent d'ailleurs avec ceux que nous avait laissés prévoir la première série et nous pouvons les résumer comme suit :

Des souris de plus de 6 mois, soumises à des réinfestations continuelles par *Hymenolepis nana*, s'infestent dans une proportion voisine de 60 pour cent. Le pourcentage atteint 90 à 100 pour cent, lors d'un traitement répété par des doses fortes de cortisone. De plus, le nombre de vers est considérablement accru par le traitement hormonal. Dans la première expérience, toutes les souris témoins sont parasitées par moins de 10 *Hymenolepis*, tandis que toutes celles soumises à la cortisone en hébergent plus de 20. Dans la deuxième expérience, 75 pour cent des souris témoins contre 30 pour cent des souris traitées par la cortisone renferment moins de 10 vers.

Il est également important de noter l'absence de vers de longueur inférieure à 1 cm chez les souris témoins. A l'opposé, 100 pour cent des souris traitées par la cortisone dans la première expérience et 20 pour cent des souris en traitement par la cortisone dans la deuxième expérience présentent des petits vers, associés, dans le tiers des cas, à des vers de grande taille, ce qui, selon Heynemann, correspond à une surinfection.

Cette remarque insiste sur la rupture d'immunité que réalise la cortisone quand elle est injectée à dose élevée et pendant un temps assez long.

DISCUSSION.

Ces conclusions confirment celles de Roman, lequel publiant les résultats obtenus sur 5 rats et 3 souris note que la cortisone, à doses élevées, intensifie leur infestation par *Hymenolepis nana*. Elle permet également le parasitisme des animaux âgés ainsi qu'une surinfestation (14, 15).

Dans ce même sens* se situent les résultats de divers auteurs travaillant sur divers parasites, Nématodes notamment, et plus particulièrement ceux de Coker lequel consacre sa thèse (11) à étudier l'action de cette hormone sur l'immunité acquise par des souris à l'égard de la Trichine.

Le mécanisme par lequel la cortisone affecte la parenté hôte-parasite n'est pas bien compris, mais on admet généralement qu'il réside dans le blocage des facteurs cellulaires de défense. S'il en est ainsi, les résultats rapportés sont en faveur d'une participation cellulaire primordiale dans le mécanisme de l'immunité acquise par les Rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*.

Les observations de Bailey (5) sont en faveur de cette conception : cet auteur, en étudiant la réaction tissulaire de l'hôte lors d'une réinfestation par les œufs d'*Hymenolepis nana*, note une infiltration cellulaire riche en éosinophiles s'opposant à l'évolution des Cysticercoïdes dans la muqueuse du petit intestin tout au moins lorsque la réinfestation suit de près — 5 à 10 jours — la contamination précédente.

* Atténuation, voire disparition de l'immunité.

Conclusions

Ce travail se propose d'approcher la connaissance des facteurs responsables de l'immunité faible, mais d'intensité croissante, que manifestent les souris à l'égard d'*Hymenolepis nana* au cours des réinfestations successives et avec l'âge.

Cette immunité peut relever :

— de phénomènes anatomiques, biochimiques ou physiologiques qui se produisent indépendamment du parasitisme et qui caractérisent le vieillissement ;

— de réactions immunologiques, conséquence du parasitisme répété par *Hymenolepis nana*.

Parmi les facteurs susceptibles d'intervenir dans le premier cas (immunité apparaissant naturellement avec l'âge) nous étudions l'influence des hormones sexuelles mâles, introduites dans l'organisme des souris impubères mâles, et des hormones femelles injectées aux souris femelles impubères.

Par ailleurs, nous étudions la possibilité de créer une immunité spécifique et nous essayons d'en préciser l'existence ainsi que d'en analyser le mécanisme en faisant appel à la cortisone.

1° INFLUENCE DES HORMONES SEXUELLES CHEZ LES SOURIS IMPUBÈRES.

Les injections sous-cutanées répétées de 1 mg de propionate de testostérone intensifient le parasitisme des souris mâles, de telle sorte que 43 pour cent hébergent plus de 20 vers contre 8 pour cent des témoins, avec un nombre moyen de vers également accru et atteignant respectivement les valeurs de 31 et 6.

Au contraire, 31 pour cent des souris femelles soumises aux injections répétées de 1 u. Rat de benzoate d'œstradiol hébergent de 10 à 20 vers contre 66 pour cent de témoins. Dans les deux lots, le nombre moyen de vers est sensiblement identique.

Ainsi, la testostérone et l'œstradiol semblent avoir une influence opposée sur le parasitisme par *Hymenolepis nana*.

Ces résultats sont en accord avec ceux que Beck et Addis ont obtenus en travaillant sur *Hymenolepis diminuta*, mais il n'en reste pas moins que le parasite présente par lui-même une sensibilité aux hormones et que l'état parasitaire créé par le traitement hormonal est la résultante des actions exercées sur le parasite d'une part, et sur l'hôte d'autre part.

Si l'on considère, en outre, que les conditions expérimentales ne reproduisent pas les conditions physiologiques, on comprend qu'il soit difficile de conclure sur le rôle que les hormones sexuelles peuvent avoir dans la défense de l'hôte à l'égard du parasite.

2° ETAT D'IMMUNITÉ PROVOQUÉ PAR LES ANTIGÈNES SOMATIQUES ET LES ANTIGÈNES MÉTABOLIQUES.

Les antigènes qui participent à la constitution du corps d'*Hymenolepis nana* (antigènes somatiques) ainsi que ceux qui sont élaborés par le parasite et déversés dans le milieu où il est maintenu en survie (antigènes métaboliques) semblent pouvoir immuniser

l'hôte, qu'ils soient administrés par tubage gastrique ou par voie sous-cutanée. Dans les conditions de notre expérimentation (un traitement tous les deux jours pendant trois semaines, puis un rappel), l'immunité créée est faible. Elle se traduit par les phénomènes suivants :

- Nombre moindre de souris parasitées.
- Diminution de la fécondité.
- Réduction de la taille des vers.

Ce dernier critère semble le plus évident.

L'intensité des modifications ne présente pas de variations significatives en rapport avec la nature des antigènes et la technique d'immunisation.

Contrastant avec ces résultats, le nombre moyen de vers ne semble pas être affecté, ce qui paraît être en rapport avec une immunité dirigée principalement contre l'adulte. On peut penser à une variation de la spécificité antigénique avec les différents stades du cycle, mais il n'est pas possible d'exclure que l'atteinte débute au stade cysticercoïde sur lequel elle peut à peine se faire sentir. On peut ainsi émettre l'hypothèse que l'immunisation provoquée par les antigènes de l'adulte, antigènes localisés dans la lumière intestinale, est trop faible pour empêcher l'évolution larvaire, la réalisation d'une immunité efficace nécessitant, d'après les travaux d'Heynemann, l'intimité tissulaire qui caractérise le développement des Cysticercoïdes dans les villosités.

3° ACTION DE LA CORTISONE SUR LA RÉSISTANCE DES SOURIS AGÉES.

Des souris de 6 mois, soumises à des réinfestations multiples voient leur résistance acquise abaissée par des injections répétées de doses élevées de cortisone : elles s'infestent dans une proportion de 90 à 100 pour cent contre 60 pour cent chez les témoins. De plus, les souris traitées par la cortisone ont des petits vers associés à des plus grands, ceux-ci étant seuls présents chez les souris témoins, ce qui semble correspondre à un phénomène de surinfection rendue possible par l'action de la cortisone.

Cette possibilité de rompre la résistance acquise des souris à l'égard d'*Hymenolepis nana*, par administration prolongée de doses fortes de cortisone, est rapportée par les auteurs ayant travaillé dans des conditions similaires sur d'autres parasites, à une inhibition des facteurs cellulaires de défense.

Ainsi, sans exclure la possibilité de l'intervention des facteurs physiologiques sur la résistance que développent les souris avec l'âge à l'égard d'*Hymenolepis nana*, une immunité spécifique humorale, ou plus encore cellulaire semble se développer au cours des réinfestations successives. La localisation tissulaire des Cysticercoïdes serait nécessaire à l'établissement d'une immunité efficace.

La dissociation entre l'immunité naturelle apparaissant au cours du vieillissement et l'immunité acquise par suite des réinfestations successives, ne sera réellement possible qu'en disposant d'élevages soustraits à la contamination par ces Cestodes.

Bibliographie

1. ACKERT (J. E.) et DEWIRST (L. W.), 1950. — Resistance of fowls to parasitism affected by female sex hormones. *J. Parasit.*, 36.

2. ADDIS (C.-J.), 1946. — Experiments on the relation between sex hormones and the growth of tapeworms (*Hymenolepis diminuta*), in rats. *Ibid.*, 32, 574-588.
3. AIKAWA (J. K.), HARREL (G. T.) et HELSABEC (N. J.), 1947. — The effect of peptic and tryptic digestion on the antigenicity of *Trichinella spiralis*. *J. Clin. Investigation*, 26, 73-76.
4. BAILENGER (J.), BAUDOIN (M.) et PAUTRIZEL (R.), 1961. — Etude de l'immunité des Rongeurs à l'égard d'*Hymenolepis nana*. *Ann. Parasit. hum. comp.*, 36, 595-610.
5. BAILEY (W. S.), 1951. — Host-tissue reactions to initial and superimposed infection with *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. *J. Parasit.*, 37, 440-444.
6. BECK, 1951. — Effect of diet upon singly established *Hymenolepis diminuta* in rats. *Exp. Parasit.*, 1, 46-59.
7. —, 1951. — Effect of gonadectomy and gonadal hormones on singly established *Hymenolepis diminuta* in rats. *Exp. Parasit.*, 1, 109-117.
8. BERNTZEN (A. K.), 1961. — The *in vitro* cultivation of Tapeworms: growth on *Hymenolepis diminuta*. *J. Parasit.*, 47, 351-355.
9. CAMPBELL (C. H.), 1955. — The antigenic rôle of the excretions and secretions of *Trichinella spiralis* in the production of immunity in mice. *J. Parasit.*, 41, 483-491.
10. CHIPMAN (P. B.), 1957. — The antigenic rôle of the excretions and secretions of adult *Trichinella spiralis* in the production of immunity in mice. *J. Parasit.*, 43, 593-598.
11. COKER (C. M.), 1954. — Effects of cortisone on established immunity to *Trichinella spiralis* in mice, with reference to the role of the cellular factors in the immunity mechanism. *Doctoral dissertation*. University of North Carolina.
12. HEYNEMAN (D.), 1962. — Studies on Helminth immunity. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11, 46-63.
13. LARSH (J. E.) et RACE (G. J.), 1954. — A histopathologic study of the anterior small intestine of immunized and non immunized mice with *Trichinella spiralis*. *J. Infect. Dis.*, 94, 262-272.
14. ROMAN (E. A.), 1958. — La cortisone peut inhiber la résistance à la réinfestation des souris parasitées par des *Hymenolepis nana fraterna* adultes. *C.R. Ac. Sci.*, 246, 1468-1470.
15. —, 1958. — Possibilité d'infestation par *Hymenolepis nana fraterna* des Rongeurs adultes traités par la cortisone. *C.R. Soc. Biol.*, 52, 105-107.
16. SADUN (E. H.), 1951. — Gonadal hormones in experimental *Ascaridia galli* infections in chickens. *Exp. Parasit.*, 1, 70-82.
17. TALIAFERRO (W. H.) et SARLES (M. P.), 1939. — The cellular reactions in the skin, lungs and intestine of normal and immune rats after infection with *Nippostrongylus muris*. *J. Infect. Dis.*, 64, 157-192.
18. TALIAFERRO (W. H.) et SARLES (M. P.), 1942. — The histopathology of the skin, lungs and intestine of rats during passive immunity to *Nippostrongylus muris*. *J. Infect. Dis.*, 71, 69-82.
19. THOMAS (L. J.), 1941. — Effect of testosterone on Nematodes. *J. Parasit.*, 27, supp^t 86.
20. TODD (A. C.) et HOLLINGS-WORTH (K. P.), 1952. — Host sex as a factor in development of *Ascaridia galli*. *Exp. Parasit.*, 1, 303-304.

Laboratoire d'Immunologie et de Biologie parasitaire

(Prof. R. PAUTRIZEL)

Faculté de Médecine et de Pharmacie

Bordeaux