Les Précipitines sériques dans les Bilharzioses humaines et expérimentales à *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*

Par A. CAPRON, A. VERNES, J. BIGUET et F. ROSÉ
et A. CLAY et L. ADENIS (pour l'étude anatomo-pathologique) *

Avant-Propos

L'immunologie et la sérologie des bilharzioses constituent l'un des chapitres de pathologie parasitaire qui a suscité depuis quelques années le plus de recherches, dont certaines particulièrement fructueuses.

Cependant, les mécanismes de l'immunité dans les schistosomoses humaines et animales demeurent toujours obscurs en dépit de la mise en œuvre des techniques d'étude les plus modernes.

Leur connaissance apparaît pourtant indispensable à la compréhension des relations qui dans ces parasitoses unissent le parasite à son hôte et constitue la seule approche rationnelle de procédés de contrôle qui viseraient à supprimer ou atténuer les manifestations pathologiques de ces helminthiases.

Ce travail qui entre dans le cadre des investigations entreprises au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Lille depuis 1962, n'a d'autre ambition que d'apporter à la connaissance des précipitines, anticorps privilégiés dont on sait le rôle considérable qu'ils jouent dans l'immunité des helminthiases, la contribution des techniques d'immuno-diffusion.

* Travail réalisé grâce à l'aide de l'Organisation mondiale de la Santé et de l'Institut national de la Santé et de la Recherche médicale.

Introduction

« Precipitins play a unique role in helminth immunity. »

KAGAN (1958).

Il est généralement admis (Kagan, 1958) que les précipitines jouent un rôle considérable dans l'établissement des phénomènes immunitaires au cours des infections helminthiques. Formées par l'hôte, en réponse au matériel sécrété et excrété par le parasite, et aux antigènes somatiques des vers morts, elles ont été rendues responsables des phénomènes d'immobilisation des helminthes dans les tissus de l'hôte, des arrêts de croissance, des altérations métaboliques et de l'inhibition de l'activité enzymatique des vers (Taliaferro, 1940-1943).

Leur recherche dans les schistosomoses fut d'abord entreprise par le « precipitin-test ».

L'utilisation par Taliaferro et coll. (1928) d'extraits d'*Australorbis glabratus* infectés ne s'avéra pas spécifique. Oliver-Gonzalez (1955), par la technique du « ring-test », montra que le titre des précipitines évalué avec un antigène cercarien était plus élevé chez les patients récemment infectés que chez ceux porteurs d'infections chroniques, cependant que les titres obtenus avec l'antigène adulte étaient sensiblement constants dans les deux groupes.

D'autres techniques d'investigation objectivant la formation de précipitines autour des œufs de schistosomes, Circum oval precipitin-test (Oliver-Gonzalez, 1954), ou des cercaires (Cercarien Hüllen Reaction, Vogel et Minning, 1949), sont très largement utilisées et ont fait l'objet de multiples publications.

Les possibilités d'utilisation des techniques de double diffusion en gélose pour la recherche des précipitines dans les bilharzioses humaines ou expérimentales furent étudiées par divers auteurs.

Levine (1959), Smithers (1960-1962), Biguet et coll. (1962), Yogore et coll. (1962), Kent (1963), Kagan et Norman (1963), Da Silva et Ferri (1965) y apportèrent successivement leur contribution.

Parallèlement, Biguet et coll. (1962), Damian (1962), Kagan et Norman (1963), Capron et coll. (1965) analysaient, par des sérums de lapin hyperimmuns, la structure antigénique de *Schistosoma mansoni* et de ses stades larvaires.

L'ensemble de ces recherches devait conduire à améliorer sensiblement nos connaissances théoriques des antigènes des schistosomes humains.

Le présent travail synthétise l'expérience acquise depuis 1962, dans l'analyse par immuno-diffusion de plus de 200 sérums de sujets atteints de bilharziose à *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*, et de plus de 366 sérums provenant de 185 animaux (hamsters, singes et lapins) expérimentalement infectés par *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*, et dont l'évolution des anticorps précipitants a été, pour certains d'entre eux, suivie au cours de l'infection.

1° Les réponses des sérums bilharziens aux antigènes des trois espèces de schistosomes préparés au laboratoire ont été systématiquement étudiées.

Dans cette optique, nous avons testé par les méthodes de double diffusion en gélose et par immuno-électrophorèse des sérums de sujets bilharziens atteints des trois types de schistosomose.

Nous avons étudié les variations des réponses immunitaires en fonction de l'espèce de schistosome en cause et en fonction de la provenance géographique des sérums.

Il nous a semblé particulièrement intéressant d'étudier les réponses immunologiques des différents sérums en fonction du tableau clinique et ce, surtout dans le cas de la bilharziose à *S. mansoni* et *S. haematobium*, où les malades ont été répartis en quatre groupes évolutifs selon la classification de Farooq (1964).

2° D'autre part, nous avons entrepris sur le hamster doré, et par les mêmes techniques, une étude qualitative et chronologique des précipitines au cours de l'infection bilharzienne à *S. mansoni* et *S. haematobium* : nous avons pu ainsi déterminer la chronologie d'apparition des anticorps précipitants.

Ont également été étudiés au cours de ce travail :

- Les anticorps spécifiques du stade du cycle évolutif ;
- Les anticorps spécifiques de l'espèce de schistosome en cause ;
- Les lésions anatomiques des hamsters ayant fait l'objet de nos recherches immunologiques ; l'étude de ce dernier point ayant été entreprise dans l'intention d'établir une éventuelle relation entre la réponse immunitaire de l'hôte et le stade des lésions anatomiques.

Résumé des travaux antérieurs sur la structure antigénique des Schistosomes humains

A) Analyse par les hyperimmunsérums expérimentaux

1° *Schistosoma mansoni*.

De 1962 à 1965, Biguet, Capron et coll. entreprenaient l'étude électrophorétique, immuno-électrophorétique et la caractérisation des antigènes spécifiques de *S. mansoni*.

En 1962, ces auteurs, grâce à l'électrophorèse en gélose pratiquée sur l'antigène standard C1Na, 0,018 M, identifiaient huit fractions protéidiques, cinq fractions gluco-protéidiques et une fraction lipidoprotéidique.

L'analyse immuno-électrophorétique parfaitement reproductible des antigènes de *S. mansoni* démontrait l'existence d'au moins 14 fractions antigéniques (dont 12 majeures), numérotées de 1 à 14, selon leur position de la zone cathodique à l'extrémité anodique.

Une étude comparative des antigènes de *S. mansoni* avec ceux de *F. hepatica*, *D. dendriticum*, *T. saginata*, *E. granulosus*, *A. lumbricoides*, *O. volvulus* et *T. spiralis* révélait que neuf fractions étaient communes avec ces divers helminthes.

Dans la limite de cette expérimentation, cinq fractions dont trois majeures, de l'extrait de *S. mansoni*, apparaissaient spécifiques.

L'une d'elles, la fraction 4, se révélait comme un constituant majeur de la mosaïque antigénique.

La valeur antigénique des produits d'incubation était étudiée.

D'autre part, l'étude de l'ordre d'apparition des anticorps expérimentaux chez le lapin hyperimmunisé montrait que l'anticorps correspondant à la fraction 4 était le premier à être mis en évidence et ceci dès la fin de la seconde semaine d'immunisation.

En 1963, Kent, pratiquant l'électrophorèse d'extraits aqueux de schistosomes adultes et de cercaires, identifiait dix fractions protidiques chez le ver adulte et huit chez la cercaire.

En 1963, Kagan et Norman étudiaient par les méthodes de double diffusion en gélose les antigènes de *S. mansoni* préparés par les méthodes de Melcher, Chaffee et par extraction trichloracétique. Des antigènes préparés par les mêmes méthodes à partir d'œufs et de cercaires, étaient également analysés. Les auteurs révélaient ainsi sept fractions spécifiques du ver adulte, trois de la cercaire et cinq de l'œuf. 25 arcs de précipitation ne purent être identifiés.

Cinq des sept fractions du ver adulte étaient retrouvées dans la cercaire et l'œuf.

Dans un récent travail Capron, Biguet et coll. (1965), entreprenaient l'étude immuno-électrophorétique des divers stades larvaires de *S. mansoni* et des adultes des deux sexes.

L'utilisation par ces auteurs de l'agarose comme support de l'immuno-électrophorèse permettait, en sensibilisant la méthode, d'identifier 21 fractions dans les extraits antigéniques de vers adultes (schéma 1, photo n° 6).

Les schistosomes mâles et femelles n'apparaissaient pas différer dans leurs constituants majeurs et le fait que des schistosomules de 20 jours possédaient l'essentiel de la structure antigénique des adultes sexuellement mûrs, permettait de mettre l'accent sur le rôle négligeable des protéines génitales telles qu'elles peuvent être analysées par les méthodes de diffusion en gélose.

L'étude comparée des divers stades larvaires et des adultes mettait en évidence l'existence de 11 fractions antigéniques communes à l'adulte et l'œuf, 14 fractions communes entre l'adulte et la cercaire et 12 fractions communes à l'adulte et aux produits d'incubation. L'identité indéniable de structure des divers stades larvaires et des extraits somatiques ou d'incubation des schistosomes s'objectivait particulièrement au niveau de la fraction 4, constituant majeur de chacun des extraits utilisés. L'analyse

SCHEMA 1. — Diagrammes immuno-électrophorétiques des antigènes *S. mansoni* adulte et cercaire *S. mansoni* révélés dans la fente supérieure par un immunosérum anti-*S. mansoni* adulte et dans la fente inférieure par un immunosérum anti-cercaire *S. mansoni*

comparée d'extraits cercariens et d'exemplaires d'*Australorbis glabratus*, hôte intermédiaire de *S. mansoni*, révélait l'existence d'une communauté antigénique non négligeable portant sur cinq fractions, dont quatre étaient identifiées chez le schistosome adulte. Ces faits constituaient la première démonstration chez les helminthes, d'un processus de synthèse par le parasite, de protéines de comportement antigénique identique à celles de l'hôte intermédiaire. Il était vraisemblable que ces relations entre le parasite et l'hôte exprimaient une modalité de l'adaptation parasitaire.

L'existence de quatre fractions antigéniques communes au schistosome adulte et à son hôte définitif, relevait peut-être de la même interprétation, mais la possibilité qu'elles soient déterminées par les protéines des contenus caecaux des schistosomes n'était pas éliminée avec certitude.

2° *Schistosoma haematobium*.

A notre connaissance aucun travail ne fait état jusqu'à ce jour de l'étude immunologique des antigènes de *S. haematobium*. La difficulté d'entretien d'une souche de *S. haematobium* hors des zones d'endémie constitue en effet un redoutable obstacle à l'obtention en quantité suffisante des vers adultes nécessaires à de telles recherches.

3° *Schistosoma japonicum*.

Nous n'avons retrouvé dans la littérature qu'une seule publication, celle de Yogore et coll. (1962), traitant de l'analyse des antigènes de *S. japonicum* par la microméthode d'Ouchterlony.

Ces auteurs analysaient par cette méthode trois préparations de *S. japonicum* par des sérums de lapins hyperimmunisés. Les antigènes utilisés étaient :

- Un extrait somatique préparé par extraction saline à partir de vers adultes lyophilisés ;
- Un antigène d'incubation ou métabolique ;
- Un extrait ovulaire préparé par extraction saline à partir d'œufs de *S. japonicum* lyophilisés.

Le sérum hyperimmun fut obtenu à partir d'un lapin ayant reçu quatre injections de vers adultes lyophilisés à une semaine d'intervalle puis, six mois plus tard, trois injections à une semaine d'intervalle d'extraits de vers non lyophilisés.

Le maximum d'arcs de précipitation observé se décomposait comme suit :

- 10 arcs avec l'antigène somatique ;
- 5 arcs avec l'antigène métabolique ;
- 6 arcs avec l'antigène ovulaire.

Les communautés antigéniques observées se traduisaient par :

- 2 arcs communs aux antigènes somatique et métabolique ;
- 4 arcs communs aux antigènes somatique et ovulaire ;
- 3 arcs communs aux antigènes métabolique et ovulaire.

B) Les précipitines sériques dans les Bilharzioses humaines et expérimentales

1° *Schistosoma mansoni*.

C'est en 1960, que Smithers, le premier, faisait état de résultats préliminaires obtenus par la technique de double diffusion en gélose dans l'analyse immunologique des sérums de singes rhésus, infectés expérimentalement par *S. mansoni*. L'auteur montrait que les réactions optimales étaient obtenues avec l'antigène œuf, puis l'antigène cercarien, l'antigène adulte ne donnant lieu qu'à des réactions faibles et inconstantes. Dans leur travail de 1962, Biguet et coll. étudiaient la réactivité de 32 sérums humains vis-à-vis de l'antigène *S. mansoni*. Dans 28 cas, la technique d'Ouchterlony permettait d'observer un ou deux arcs de précipitation qu'il ne fut pas possible de localiser par immuno-électrophorèse. Les sérums de deux *Macacus mulatta* révélaient respectivement deux et trois arcs de précipitation en Ouchterlony, ces derniers résultats confirmaient ceux obtenus précédemment par Smithers avec des sérums de *Macacus rhésus* et un extrait aqueux de *S. mansoni*.

En 1963, Kent, utilisant les méthodes de double diffusion en gélose, mettait en évidence dans les sérums humains de bilharziens de deux à trois arcs de précipitation et localisait par immuno-électrophorèse un arc de précipitation anti-cercarien et un arc anti-adulte.

La même année Kagan et Norman utilisaient les mêmes méthodes et retrouvaient dans les sérums de patients bilharziens un à trois arcs de précipitation ; deux de ces arcs étaient identiques à ceux provenant de sérums de lapins immunisés par des schistosomes adultes et testés par un antigène cercarien. Il pouvait apparaître en définitive, eu égard à l'excellente concordance des résultats obtenus par les divers auteurs précités, qu'en comparaison avec d'autres helminthiases où l'analyse immuno-électrophorétique de l'antigène vermineux par le sérum des malades ou d'animaux expérimentalement infectés permet la révélation d'anticorps précipitants : hydatidose (Kagan, 1962), onchocercose (Biguet et coll., 1962-1965), distomatose (Capron et coll., 1964-1965), paragonimose (Capron et coll., 1965), cysticercose (travail en cours), et constitue une méthode précieuse de diagnostic, celui des bilharzioses ne pouvait que médiocrement bénéficier de l'apport des techniques d'immuno-diffusion.

Cependant en 1964, Biguet et coll., dans un rapport à l'Organisation Mondiale de la Santé, puis au 1^{er} Congrès International de Parasitologie, faisaient état d'excellents résultats obtenus par l'étude immuno-électrophorétique chez les malades sélectionnés selon le stade clinique de l'affection. De deux à neuf arcs de précipitation pouvaient être mis en évidence et les auteurs attiraient pour la première fois l'attention sur l'apparente relation qui semblait exister entre le taux des anticorps précipitants et le gradient clinique de l'infection.

Ces premiers résultats laissaient envisager l'intérêt que pourrait revêtir la recherche dans les bilharzioses humaines ou expérimentales, des précipitines, en fonction de la chronologie de l'infection bilharzienne et des lésions qu'elle détermine chez l'hôte.

En 1965, Da Silva et Ferri, se livraient à une étude immunologique plus importante par la technique d'Ouchterlony. Ces auteurs étudiaient les réponses à l'antigène *S. mansoni* de 66 sérums de bilharziens à *S. mansoni*, diagnostic parasitologiquement confirmé par la présence d'œufs dans les selles, ou par biopsie rectale.

Ces 66 malades étaient séparés en deux groupes cliniques :

- 29 malades porteurs d'une forme hépato-intestinale ;
- 37 malades porteurs d'une forme hépatosplénique.

Les réactions positives variaient de 78,3 % dans les formes hépatospléniques à 37,9 % dans les formes hépato-intestinales.

Le nombre d'arcs de précipitation, qui allait d'un à quatre, subissait également les mêmes variations. Dans les formes hépato-intestinales, le nombre d'arcs observés était presque toujours de un, alors que dans les formes hépatospléniques, il était fréquemment de deux à trois. Ces résultats confirmaient les observations préliminaires de Biguet et coll., et l'intérêt d'une étude conjointe des réactions immunitaires et des manifestations cliniques dans les bilharzioses humaines.

2° *S. haematobium*.

Il n'existe aucune relation de l'analyse immunologique de l'antigène *S. haematobium* par des sérums humains.

3° *S. japonicum*.

Dans leur travail de 1962, Yogore et coll. étudiaient la réactivité de sept sérums humains de bilharziens à *S. japonicum* vis-à-vis de leurs extraits antigéniques. Ces sérums furent étudiés avant et après une thérapeutique intensive par la foudaine. Les résultats observés étaient les suivants :

Avant traitement :

- de 0 à 2 arcs de précipitation avec l'antigène somatique ;
- de 0 à 5 arcs de précipitation avec l'antigène métabolique ;
- de 3 à 6 arcs de précipitation avec l'antigène ovulaire.

Après traitement de 7 à 22 jours, les auteurs observaient :

- de 0 à 3 arcs de précipitation avec l'antigène somatique ;
- de 1 à 6 arcs de précipitation avec l'antigène métabolique ;
- de 2 à 4 arcs avec l'antigène ovulaire.

*
**

L'ensemble de ces travaux faisait naître des hypothèses, suggérait des expérimentations complémentaires, suscitait des mises au point, qui ont constitué l'axe de nos recherches.

Matériel et Méthodes d'Etude

Antigènes

Les antigènes utilisés au cours de ce travail furent constitués par :

1° Des extraits de vers adultes, de cercaires, d'œufs et des produits d'incubation de *S. mansoni* préparés dans des conditions techniques précédemment exposées (Biguet et coll., 1962 ; Capron et coll., 1965).

2° Des extraits de vers adultes de *S. haematobium* récoltés par perfusion de hamsters infestés par voie transcutanée 15 semaines auparavant, par 600 cercaires.

3° Des extraits de vers adultes de *S. japonicum* furent également réalisés selon les mêmes techniques (1).

Souches utilisées

Les furcocercaires utilisées pour l'infection des singes et des hamsters et des divers rongeurs par *S. mansoni* et *S. haematobium*, ont été recueillies à partir des mollusques infectés au laboratoire par les souches suivantes :

Pour *S. mansoni* :

Souche brésilienne entretenue à Lille depuis 1960 par passages successifs sur hamster et *Australorbis glabratus*, souche du Surinam.

Pour *S. haematobium* :

Deux souches ont contribué à la récolte des vers :

a) *Souche algérienne* (2) (Abed Inkerman) adaptée et entretenue à Lille depuis mars 1963, par passages successifs sur hamster et *Bulinus truncatus* Audouin, souche corse ;

b) *Souche marocaine* (Lansen-Sous) : adaptée et maintenue au laboratoire depuis mai 1964, par passages successifs sur hamster et *Bulinus truncatus*, souche corse.

Sérums

La grande variété des sérums utilisés pour ce travail nous incite, pour faciliter la compréhension du lecteur, à en mentionner l'origine et la nature au début de chacun des chapitres qui rapporte les résultats de leur étude.

(1) Nous exprimons toute notre gratitude à M. le Professeur T. Sawada, Gunma University Maebashi, Japon, et à M. le Docteur Moose, 406 th Medical General Laboratory U.S. Army Medical Command, Japon, qui ont bien voulu nous adresser les vers adultes lyophilisés de *S. japonicum* utilisés pour ces extraits.

(2) Toute précision utile concernant cette souche peut être obtenue dans le travail de Capron et coll., 1965.

Méthodes

Nous avons utilisé pour la recherche et l'étude des précipitines, tant humaines qu'animales, les techniques d'immuno-diffusion suivantes :

a) La variante d'Abelev et Zvetkov, de la méthode d'Ouchterlony, décèle l'existence éventuelle d'anticorps précipitants et démontre les identités de fractions antigéniques ou d'anticorps. La standardisation du volume des cuves destinées aux sérums et aux antigènes, est obtenue par l'emploi du perforateur Shandon ;

b) L'immuno-électrophorèse selon Grabar et Williams, lorsque la méthode d'Ouchterlony a révélé plus d'un arc de précipitation, est effectuée en agarose (tampon véronal à pH 8,2, F.i. 0,1).

La séparation électrophorétique préalable de l'antigène dure cinq heures trente, sous une différence de potentiel de 20 V aux extrémités des lames (11 × 5 cm). Les diagrammes sont ensuite révélés par les sérums humains ou expérimentaux concentrés au tiers.

Interprétation des immuno-électrophorégrammes

Pour faciliter dans le texte le report à certains arcs de précipitation d'intérêt particulier, toutes les fractions antigéniques sont numérotées de 1 à 21 (nombre maximum observé), de la cathode à l'extrémité anodique.

A l'exception de la fraction 4 à laquelle nous avons arbitrairement laissé cette dénomination, quelle que soit la nature de l'extrait antigénique qui la révèle, les chiffres attribués aux fractions de tels extraits antigéniques ne préjugent en rien de leur identité avec celles qui portent le même numéro dans l'immuno-électrophorégramme d'un extrait différent.

Nous avons précisé, quand cela nous a été possible, l'identité des fractions antigéniques en utilisant la numérotation propre à chaque diagramme.

Structure antigénique comparée des trois principales espèces de Schistosomes humains :

S. mansoni, *S. haematobium*, *S. japonicum*

Il nous est apparu au seuil de l'étude des précipitines dans les bilharzioses humaines et expérimentales qu'une analyse préalable de la structure antigénique comparée des trois espèces de schistosomes, par les hyperimmunsérums expérimentaux constituait une étape indispensable à la compréhension de nos investigations ultérieures.

Dans cette intention, des extraits antigéniques de *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum* furent analysés, selon les techniques immuno-électrophorétiques précédemment exposées, par des sérums de lapins hyperimmunisés durant plusieurs semaines

par l'injection hebdomadaire selon la méthode de Freund (mycobactéries exceptées) d'antigène brut constitué par des vers lyophilisés ou vivants (20 mg ou son équivalent en poids sec).

Pour chacun des antigènes *S. mansoni* et *S. haematobium*, trois lapins furent immunisés. Il est à noter que l'injection de broyats de vers vivants permet d'obtenir une hyperimmunisation nettement plus rapide et de qualité supérieure à celle obtenue par l'injection de vers lyophilisés.

L'immunisation d'un lapin par *S. japonicum* n'a pu jusqu'ici être menée à bien en raison des difficultés d'obtention de l'antigène brut.

Résultats

1° Rappel sur la structure de *S. mansoni*.

Les travaux de Biguet et coll. (1962) et Capron et coll. (1965), que nous résumons au chapitre I de ce travail ont permis d'individualiser dans l'extrait antigénique de *S. mansoni*, 21 fractions antigéniques numérotées de 1 à 21 de la cathode à l'extrémité anodique (schéma 1, photo n° 6).

Nous ne rappellerons pas ici les précisions analytiques que fournit l'expérimentation de ces auteurs, nous bornant à faire seulement mention de l'intérêt particulier que revêt dans l'immuno-électrophorégramme la fraction « 4 », qui apparaît comme un constituant majeur de la mosaïque antigénique de *S. mansoni*, ne semble pas intéressée par les réactions croisées avec divers helminthes étudiés, et détermine la production d'un anticorps d'apparition précoce chez l'animal hyperimmunisé.

2° Structure antigénique de *S. haematobium*.

Dans des conditions expérimentales identiques, l'analyse immuno-électrophorétique de l'extrait antigénique *S. haematobium* par un hyperimmunsérum de lapin anti-*S. haematobium* permet d'individualiser également au moins 21 fractions antigéniques (schéma 2).

L'analyse de ce même extrait *S. haematobium* par un hyperimmunsérum anti-*S. mansoni*, permet de mettre en évidence 19 fractions, ce qui témoigne d'une parenté antigénique considérable entre ces deux espèces de schistosomes. Certaines nuances peuvent être appréciées dans l'intensité relative des arcs. Elles n'expriment en tout cas que des différences quantitatives.

Cette remarquable communauté antigénique est par ailleurs confirmée par les expériences de saturation effectuées : l'analyse immuno-électrophorétique de l'extrait antigénique *S. haematobium*, par un hyperimmunsérum anti-*S. haematobium*, préalablement saturé par l'extrait antigénique *S. mansoni*, ne permet plus de localiser que deux fractions qui apparaissent par rapport à *S. mansoni* comme spécifiques de *S. haematobium* (schéma 3).

L'importance de cette observation sera rappelée ultérieurement lors de l'étude des précipitines humaines et animales.

SCHÉMA 2. — Diagrammes immuno-électrophorétiques de l'antigène *S. haematobium* révélés dans la fente supérieure par un immunosérum anti-*S. mansoni* adulte et dans la fente inférieure par un immunosérum anti-*S. haematobium*. On notera l'importante communauté des deux mosaïques antigéniques et l'absence des fractions 9 et 20 dans le diagramme révélé par l'immunosérum anti-*S. mansoni* adulte

SCHÉMA 3. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. haematobium* révélé par un immunosérum anti-*S. haematobium* saturé par l'antigène *S. mansoni* adulte. Les fractions 9 et 20 sont spécifiques de *S. haematobium*

Parmi les 19 fractions communes, la fraction « 4 » apparaît également chez *S. haematobium* comme un constituant majeur de la mosaïque antigénique. Il convient même de noter que la migration sur l'immuno-électrophorégramme est constamment plus étalée vers l'anode et plus intense que dans l'extrait *S. mansoni*, que l'extrait *S. haematobium* soit révélé par un antisérum *S. haematobium* ou *S. mansoni*.

L'identité de la fraction « 4 » dans les deux extraits considérés a pu être démontrée par la technique de la fente courte.

Nous n'avons pu, faute de matériel en quantité suffisante, effectuer les épreuves de saturation de l'immunsérum *S. mansoni* par *S. haematobium* qui nous eussent renseignés sur la localisation dans l'extrait *S. mansoni*, des fractions spécifiques par rapport à *S. haematobium*. Ces épreuves seront tentées ultérieurement. Néanmoins, la comparaison des immuno-électrophorégrammes permet d'envisager comme spécifique de *S. mansoni*, la fraction 8 du diagramme expérimental de ce schistosome.

On doit en conclusion, mettre l'accent sur l'importance des communautés de structure antigénique existant entre les deux schistosomes, notion qui, on le verra, apparaît d'un intérêt certain dans la pratique des tests immunologiques utilisés dans les bilharzioses que ces deux espèces déterminent.

3° Structure antigénique de *S. japonicum*.

Nous n'avons pu dans l'état actuel de nos travaux, préparer un hyperimmunsérum anti-*S. japonicum* et la structure antigénique de cette espèce a été appréciée par les hyperimmunsérums des deux espèces *S. mansoni* et *S. haematobium* précédemment étudiées.

L'analyse immuno-électrophorétique de l'extrait antigénique *S. japonicum* par un hyperimmunsérum de lapin anti-*S. mansoni*, ne permet pas de révéler plus de dix fractions communes (schéma 4). L'intensité même des arcs obtenus reste faible, en dépit de multiples variations de concentration effectuées, ce qui témoigne d'une parenté antigénique qualitativement et quantitativement beaucoup moins affirmée que celle unissant *S. mansoni* et *S. haematobium*.

Cette observation un peu surprenante, si l'on considère la parenté taxonomique de ces trois espèces, nous a amené à répéter l'expérimentation sur deux lots d'antigène *S. japonicum* de provenance différente, quoique tous deux japonais. Les résultats obtenus furent identiques dans les deux cas. La confirmation de la parenté antigénique limitée à une dizaine de fractions antigéniques entre *S. mansoni* et *S. japonicum* devait d'ailleurs nous être apportée par les épreuves de saturation.

L'analyse immuno-électrophorétique de l'extrait *S. mansoni* par un hyperimmunsérum anti-*S. mansoni*, préalablement saturé par l'extrait *S. japonicum*, révèle encore, en effet, onze arcs de précipitation.

Parmi les dix fractions communes aux deux espèces, la fraction « 4 » est ici encore, identifiée. Si l'on en juge par ses caractères de migration et sa moindre intensité, elle apparaît cependant quantitativement moins importante que chez *S. mansoni*.

L'analyse de l'extrait *S. japonicum* conduit à des résultats identiques si on substitue un hyperimmunsérum anti-*S. haematobium* à l'hyperimmunsérum anti-*S. mansoni*.

SCHEMA 4. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. japonicum* révélé par un immunsérum anti-*S. mansoni* adulte. Dix fractions sont individualisées

Dix arcs de précipitation sont révélés, qui sont d'ailleurs plus nets et plus intenses (en particulier celui qui correspond à la fraction 4) que lorsqu'on utilise l'immunsérum anti-*S. mansoni*.

Commentaires et Conclusions

Cette étude de la structure antigénique comparée des trois principales espèces de schistosomes humains, pour préliminaire qu'elle soit, n'en permet pas moins certains commentaires généraux.

Si l'équipement antigénique de *S. haematobium* apparaît très voisin de celui de *S. mansoni*, les différences ne s'expriment que par deux fractions spécifiques et quelques nuances d'ordre quantitatif, la mosaïque antigénique de *S. japonicum* par contre, tout en témoignant d'un apparentement indéniable avec les précédentes espèces, est beaucoup plus nettement caractérisée puisque le nombre des fractions qui lui sont propres représente la moitié de celui de la structure antigénique commune de *S. haematobium*.

L'interprétation de tels faits est évidemment complexe. Toutefois, l'expérience acquise par l'analyse immuno-électrophorétique comparée de cinq espèces de distomes parasites de l'homme et des animaux domestiques (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Paragonimus westermani*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felinus*) nous a permis de constater l'importante disparité de structure de ces helminthes en dépit de leur parenté taxonomique relative. Cette disparité de la mosaïque antigénique chez les trématodes, qui s'oppose à l'homogénéité habituellement constatée, du moins dans les limites de notre expérience actuelle, chez les cestodes et les nématodes, nous incline à émettre l'hypothèse que l'analyse immuno-chimique comparée des trématodes, telle que le permettent les techniques d'immuno-diffusion, constituerait moins une approche de leur position taxonomique que le reflet des modalités de leur adaptation parasitaire.

Dans le cas particulier des schistosomes humains, la confrontation des résultats fournis par l'étude comparée de la structure des trois espèces sous revue, avec les notions classiquement admises concernant leur biologie et l'épidémiologie des affections qu'elles déterminent, nous conduit à ne pas négliger l'hypothèse d'une relation éventuelle entre la structure immuno-chimique des vers schistosomes et les modalités des rapports hôte-parasite qu'ils affectent.

S. haematobium, espèce étroitement adaptée à l'homme, et *S. mansoni*, espèce qui, aussi adaptable qu'elle puisse être à l'animal, n'en est pas moins épidémiologiquement essentiellement humaine, ont toutes deux un *Planorbidae* comme hôte intermédiaire et un équipement antigénique très proche.

S. japonicum, par contre, espèce dont les rapports hôte-parasite qu'elle présente sont très variables suivant l'origine géographique des souches, semble témoigner d'une plasticité d'adaptation nettement plus importante et la structure antigénique diffère, peut-être par suite des pressions adaptatives qu'elle subit de la part des hôtes intermédiaires et définitifs, sensiblement de la mosaïque théorique que possède *S. haematobium* par exemple.

Dans cette hypothèse, l'étude très précise de la structure antigénique comparée

des schistosomes et de leurs diverses souches (*S. japonicum* en particulier) devrait conduire à d'intéressantes perspectives sur leur phylogénie et, de façon plus générale, conférer un aspect nouveau à nos connaissances des réactions immunitaires dans les schistosomoses.

Pour prématurée et fragile que puisse être considérée cette hypothèse (3), elle nous semble néanmoins ouvrir une voie de recherches qui légitime la place que nous lui avons accordée ici.

Il reste que la confrontation immunologique des trois espèces de schistosomes étudiées dans ce travail apporte des renseignements précieux quant à leur structure relative, confère à certaines fractions en apparence spécifiques une valeur particulière, et incite à rechercher les précipitines qui leur correspondent.

Ces données préliminaires nous ont guidé dans l'étude analytique des précipitines que nous avons effectuée chez l'homme et chez l'animal et dont nous exposerons maintenant les résultats.

Les Précipitines dans les Bilharzioses humaines

Matériel

Nous avons disposé, pour réaliser ce travail, des sérums suivants :

A) 170 sérums de sujets porteurs de bilharziose à *S. haematobium*, qui furent prélevés en République du Tchad (4), ou chez des travailleurs mauritaniens ou sénégalais employés dans la région du Nord ;

B) 28 sérums dont 12 de sujets atteints de bilharziose à *S. haematobium* et 16 de bilharziose à *S. mansoni* sélectionnés selon les critères de classification de Farooq (5) ;

C) 7 sérums de sujets atteints de bilharziose à *S. japonicum* (6).

Résultats

Il convient ici de rapporter et d'analyser séparément les données fournies par la prospection générale faite chez des sujets non sélectionnés et celle plus limitée où purent être conjointement obtenus des éléments de confrontation clinique pour chacune des bilharzioses à *S. haematobium*, *S. mansoni* et *S. japonicum*.

(3) L'éventualité que la disparité de structure constatée entre *S. mansoni* et *S. haematobium*, d'une part, et *S. japonicum*, d'autre part, soit liée à la nature différente de l'hôte définitif expérimental utilisé : hamster pour *S. mansoni* et *S. haematobium*, lapin pour *S. japonicum*, ne peut être en effet éliminée. Des protéines de comportement antigénique identique à celles de l'hôte définitif ont été observées par Damian (1962) et Capron et coll. (1965) chez les schistosomes. Le problème n'est cependant pas résolu de savoir si ces identités antigéniques sont liées à une pression adaptative de l'hôte ou à l'existence de sang de l'hôte et de produits de sa dégradation enzymatique dans le contenu caecal des vers.

(4) Nous exprimons notre gratitude au Docteur Ziegler qui a bien voulu collecter pour nous au Tchad et nous adresser les sérums de ce groupe.

(5) Nous remercions très vivement M. le Docteur Farooq et M. le Docteur Fripp pour l'extrême obligeance avec laquelle ils ont bien voulu nous procurer ces sérums et les renseignements concernant ces malades.

(6) Nous devons à M. le Professeur Sawada et à M. le Professeur Yokogawa d'avoir pu étudier ces sérums. Nous leur en exprimons nos très vifs remerciements.

A) LES PRÉCIPITINES DANS LA BILHARZIOSE A *S. haematobium*

a) Prospection globale :

L'étude de 170 sérums de sujets atteints de bilharziose à *S. haematobium* parasitologiquement confirmée a été effectuée selon les techniques précitées.

Les résultats obtenus, rassemblés dans le tableau I, mettent en évidence :

1° La présence fréquente de protéine anti-C dans le sérum des malades, révélée dans 74,70 % des cas.

2° L'existence d'une réaction de précipitation positive avec l'extrait antigénique *S. mansoni* dans 58,83 %.

3° La majorité des réactions positives s'exprime par un ou deux arcs de précipitation, le maximum observé dans 8 % des cas seulement étant de quatre arcs.

TABLEAU I. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène *S. mansoni* adulte dans les sérums de 170 sujets bilharziens à *S. haematobium*, répartis selon la provenance géographique (Technique d'Ouchterlony)

N° du lot Provenance	Nbre de sérums	Présence de C.R.P.	Réaction + avec <i>S. mansoni</i>	1 arc	2 arcs	3 arcs	4 arcs
1 Tchad	21	13	11	6	3	1	1
2 Tchad	47	38	31	21	6	2	2
3 Tchad	38	27	30	14	11	3	2
4 Tchad	20	12	10	6	3	0	1
5 Maurét ... Sénégal ...	31	26	11	7	2	0	2
6 Maurét ... Sénégal ...	13	11	7	4	2	1	0
Total	170	127	100	58	27	7	8
%		74-70 %	58-83 %	58 %	27 %	7 %	8 %

Si l'on confronte ces résultats avec ceux obtenus dans des précédentes enquêtes, plus limitées, effectuées par Biguet et coll. (1962), Kent (1963), Kagan et coll. (1963), Silva et Ferri (1965), on remarquera que les taux de positivité, quoique variables selon l'expérience des auteurs, n'atteignent jamais le pourcentage absolu : 60 à 80 % seulement des sujets atteints de bilharziose, sans préjuger de la forme clinique, présentent,

avec les techniques de double diffusion, une réaction positive, le maximum d'arcs observés étant de quatre.

On peut s'interroger sur la nature des variations des taux de positivité dans les diverses enquêtes.

Trois facteurs peuvent en rendre compte :

- la nature et la qualité variable de l'extrait antigénique de *S. mansoni* utilisé ;
- l'origine géographique de la souche infectante ;
- le stade clinique de l'infection.

Une étude immunologique limitée des sérums de bilharziens, tenant compte des deux derniers facteurs, a pu être réalisée.

b) Etude selon le gradient clinique :

Douze malades porteurs de bilharziose à *S. haematobium* parasitologiquement confirmée, et classés selon les gradients cliniques de Farooq par l'auteur, ont été étudiés.

Le tableau II rassemble les résultats obtenus et permet les quelques commentaires suivants :

1° La constance des réponses en double diffusion ; tous les sérums analysés révèlent un à quatre arcs de précipitation avec l'extrait antigénique *S. mansoni*.

2° L'analyse immuno-électrophorétique de l'extrait *S. mansoni* par les sérums de douze malades révèle dans dix cas de un à cinq arcs de précipitation.

L'immuno-électrophorèse, moins sensible que la réaction d'Ouchterlony lorsque le taux de précipitines est faible, est généralement plus analytique lorsque ce taux s'élève.

3° La confrontation du nombre d'arcs que révèlent les sérums des malades et de leur gradient clinique montre que, dans la limite de notre expérimentation, le titre des précipitines est plus élevé chez les malades au stade III de l'affection : chez les quatre sujets de ce groupe, on observe de deux à cinq arcs de précipitation, alors que chez les huit sujets « asymptomatiques » on ne décèle que, dans six cas, un ou deux arcs.

4° L'analyse de l'antigène *S. haematobium* par le sérum des malades apparaît donner des résultats légèrement supérieurs à ceux fournis par celle de l'antigène *S. mansoni*, bien que ces deux espèces soient antigéniquement très apparentées.

Ainsi que nous l'avons exprimé plus haut (cf. chapitre expérimental), ces différences nous semblent être surtout de nature quantitative et dépendantes du rapport antigène-anticorps considéré.

5° Il apparaît toutefois qu'une fraction antigénique de *S. haematobium*, spécifique de ce schistosome ainsi que le démontrent les épreuves de saturation, puisse déterminer chez l'homme un anticorps qualitativement différent de ceux que révèle l'antigène *S. mansoni*. Cette fraction qui paraît correspondre à la fraction 9 du diagramme expérimental, et ne disparaît pas lors de la saturation d'un immunosérum de lapin *S. haematobium* par l'antigène *S. mansoni*, a été révélée par les sérums de deux malades (schéma 5).

Cette observation, qui mériterait d'être confirmée chez un lot plus important de sujets, ne nous semble pas dépourvue d'intérêt théorique et pratique.

TABLEAU II. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. mansoni* et *S. haematobium* dans les sérums de 12 sujets bilharziens à *S. haematobium*, répartis selon le gradient clinique de Farooq

Provenance des sérums	Age (ans)	Sexes	Classification clinique	Autres parasites	Traitement	C.R.P.	Nombre d'arcs en Ouchterlony		Nombre d'arcs en immuno-électrophorèse	
							<i>S. mansoni</i>	<i>S. haematobium</i>	<i>S. mansoni</i>	<i>S. haematobium</i>
Egypte .	15	F	Asymptomatique	Ascaris	0	+	1	3	1	1
Egypte .	16	F	<i>id.</i>	Ascaris	0	+	1	2	1	1
Egypte .	15	M	<i>id.</i>	Ascaris	0	—	3	3	2	3
Egypte .	14	M	<i>id.</i>	...	0	--	2	2	2	2
Egypte .	20	M	<i>id.</i>	Ascaris	0	+	2	3	1	2
Egypte .	28	M	Stade III	...	0	—	4	4	3	4
Egypte .	23	M	<i>id.</i>	...	0	+	4	5	5	6
Egypte .	24	M	<i>id.</i>	Ascaris	0	+	1	3	2	3
Egypte .	25	M	Asymptomatique	Ascaris Ankylostome	0	+	2	2	1	1
Egypte .	40	M	<i>id.</i>	...	0	—	1	2	0	0
Egypte .	27	M	<i>id.</i>	Ascaris Trichostong.	0	--	1	1	0	0
Sénégal .	31	M	Stade III	...	0	+	3	4	4	4

6° La protéine C est observée dans sept cas sur douze.

B) LES PRÉCIPITINES DANS LA BILHARZIOSE HUMAINE A *S. mansoni*

Nous n'avons pu, comme dans la bilharziose à *S. haematobium*, disposer d'un lot important de sérums qui eût permis une prospection globale, et notre étude a été limitée

SCHEMA 5. — Diagrammes immuno-électrophorétiques des antigènes *S. haematobium* et *S. mansoni* adulte révélés par le sérum d'un sujet bilharzien à *S. haematobium*. La fraction 9 est spécifique de *S. haematobium*. Six systèmes précipitants sont individualisés

TABLEAU III. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène *S. mansoni* adulte dans les sérums de 16 sujets bilharziens à *S. mansoni*, répartis selon le gradient clinique de Farooq

Provenance des sérums	Age (ans)	Sexe	Classification clinique	Autres parasites	Traitement	C.R.P.	Nbre d'arcs en Ouchterlony	Nbre d'arcs en immuno-électrophorèse	Arc 4
Egypte	24	M	Asymptomatique.	Ascaris	0	+	4	4	+
Egypte	24	M	Stade IV.	...	0	+	8	9	+
Egypte	27	M	Asymptomatique.	...	0	+	3	4	+
Egypte	17	M	Stade III.	...	0	+	8	8	+
Egypte	24	M	Asymptomatique.	Ascaris	0	+	4	4	+
Egypte	27	M	Asymptomatique.	...	0	+	3	4	+
Egypte	20	M	Stade III.	...	0	+	4	4	+
Egypte	27	M	Asymptomatique.	...	0	+	3	4	+
Egypte	21	M	Asymptomatique.	...	+	+	3	4	+
Uganda	40	F	Stade III.	Ankylostome	0	+	6	7	+
Uganda	35	M	Asymptomatique.	Ankylostome	0	+	2	1	—
Uganda	32	M	Stade III.	Ankylostome	0	+	3	2	+
Uganda	35	M	Asymptomatique.	...	+	+	2	2	—
Uganda	15	F	Asymptomatique.	...	0	+	3	2	+
Uganda	25	F	Asymptomatique.	...	+	+	2	1	—
Uganda	40	M	Asymptomatique.	...	0	+	2	1	—

à l'analyse immunologique de 16 sérums de sujets atteints de bilharziose à *S. mansoni* et classés selon le gradient clinique de Farooq. Le tableau III, qui résume les observations, permet les commentaires suivants :

1° Tous les sérums des malades étudiés renferment de la protéine C et objectivent l'existence d'anticorps précipitants. La réaction d'Ouchterlony met en évidence de deux à huit arcs de précipitation (photos n°s 1 et 2), cependant que l'analyse immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* par ces sérums met en évidence de un à neuf arcs (schéma 6, photo n° 9).

C'est la première fois, à notre connaissance, qu'un nombre aussi élevé de systèmes antigène-anticorps peuvent être révélés dans les sérums de bilharziens par les techniques de diffusion en gélose. Des recherches similaires effectuées depuis 1962 (Biguet, Kent, Kagan) n'avaient jamais mis en évidence plus de quatre arcs de précipitation.

Cette observation nous a suggéré, dès 1964, l'existence d'une corrélation possible entre les phénomènes immunitaires et le gradient clinique de l'affection.

On remarquera en effet que les réactions les plus importantes sont décelées dans les sérums de sujets aux stades III et IV de la maladie, cependant que les sujets dits « asymptomatiques » révèlent un nombre nettement moins élevé de systèmes précipitants. Ces résultats, quoique fragmentaires, nous paraissent apporter des éléments nouveaux à notre connaissance des relations hôte-parasite, dans les bilharzioses humaines, et conférer un intérêt particulier à l'étude des phénomènes immunitaires en corrélation avec le stade clinique de l'infection. Ces observations publiées sous leur forme préliminaire, en septembre 1964, rapportées au Congrès International de Parasitologie de Rome, et dans le travail de Biguet et coll. (1965), viennent d'être parfaitement confirmées par Da Silva et Ferri (1965).

Ces auteurs, étudiant par la technique d'Ouchterlony les sérums de 66 bilharziens à *S. mansoni* (29 avec forme hépato-intestinale et 37 avec forme hépato-splénique), montrent que les précipitines sont plus fréquentes dans les formes hépato-spléniques (78,3 %) que dans les formes hépato-intestinales (37,9 %). Le nombre d'arcs observés qui varie d'un à quatre dans les formes hépato-spléniques n'est jamais supérieur à un dans les formes hépato-intestinales. Les deux expériences, bien qu'intéressant deux lots de malades provenant l'un du continent africain, l'autre du continent américain, sont donc remarquablement concordantes et autorisent à envisager une enquête à la fois plus vaste et plus précise dans ses corrélations cliniques que celle que nous avons pu mener.

2° L'accent doit être mis enfin sur une fraction antigénique majeure, spécifique dans l'état actuel de nos connaissances (fraction 4), et qui détermine chez l'homme la production d'une précipitine dont la présence a pu être confirmée dans douze cas et dont l'intérêt diagnostique nous paraît devoir être signalé.

C) LES PRÉCIPITINES DANS LES BILHARZIOSES HUMAINES A *S. japonicum*

La recherche des précipitines dans la bilharziose humaine à *S. japonicum* n'a fait à notre connaissance l'objet que du seul rapport de Yogore et coll. (1962). Nous avons

SCHÉMA 6. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte révélé par le sérum d'un sujet bilharzien à *S. mansoni*. Neuf systèmes précipitants sont individualisés

souhaité, dans le cadre de ce travail, confronter cette recherche avec les résultats obtenus dans les bilharzioses à *S. mansoni* et *S. haematobium*.

Les difficultés qui président à l'obtention du matériel nécessaire à une telle expérimentation, tant en ce qui concerne les sérums que les vers adultes de *S. japonicum*, expliquent le caractère très limité de notre prospection.

Les sérums de sept sujets atteints de bilharziose à *S. japonicum* parasitologiquement confirmée furent analysés selon les techniques précédemment exposées. Les résultats obtenus, groupés dans le tableau IV, mettent en évidence :

TABLEAU IV. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. japonicum* et *S. mansoni* adulte dans les sérums de 7 sujets bilharziens à *S. japonicum* (Technique d'Ouchterlony)

N° du sérum	C.R.P.	<i>S. japonicum</i>	<i>S. mansoni</i>
Lot 1 :			
N° 1	+	3	2
N° 2	+	6	3
N° 3	+	2	1
Lot 2 :			
N° 3	+	5	2
N° 4	+	3	1
N° 5	+	3	1
N° 6	+	3	1

1° La présence constante de protéine anti-C dans le sérum des malades.

2° L'existence constante de précipitines.

3° Le nombre variable de deux à six des systèmes, précipitant l'extrait somatique de *S. japonicum*.

Ces résultats sont très comparables à ceux obtenus par Yogore et coll. (également chez sept sujets) et, bien que plus favorables que dans l'expérience de ces auteurs, confirment parfaitement celle-ci.

4° On remarquera que l'extrait antigénique de *S. mansoni* ne révèle dans le sérum des sept malades qu'un à trois arcs de précipitation. Ceci corrobore les résultats que nous avons obtenus par l'analyse immuno-électrophorétique comparée de *S. mansoni* et *S. japonicum* par le sérum de lapin hyperimmunisé et qui montrent la parenté antigénique très limitée de ces deux espèces.

Commentaires et Conclusion

Cette étude analytique des précipitines dans les bilharzioses humaines ne représente à nos yeux qu'une étape préliminaire dans notre connaissance des réactions immunitaires au cours de ces affections parasitaires.

De multiples difficultés matérielles n'ont pas permis d'étendre certaines expérimentations ou d'en orienter différemment d'autres, ainsi qu'il l'eût été souhaitable.

Constituant néanmoins, dans les affections humaines déterminées par les schistosomes, la première enquête importante, groupant la recherche des précipitines grâce à des extraits antigéniques de l'espèce parasitaire incriminée, elle tente de confronter les résultats acquis par les techniques de diffusion en gélose et les données cliniques. La synthèse des résultats obtenus permet certains commentaires généraux :

1° Bien que les techniques d'immuno-diffusion ne constituent pas dans les bilharzioses humaines une méthode de diagnostic d'application aisée et systématique, elles apparaissent, si l'on en juge par la présente enquête, comme un moyen précieux d'analyse de certaines réactions immunitaires de l'hôte au parasitisme par les schistosomes. Cette opinion nuance quelque peu notre impression préliminaire (1962) et celle énoncée par certains auteurs (Kent 1963).

2° Les précipitines peuvent être décelées par ces techniques dans 60 % des cas de bilharziose à *S. haematobium* et dans la presque totalité des cas des bilharzioses à *S. mansoni* et *S. japonicum*. Indépendamment de l'appréciation du gradient clinique, la fréquence et le taux des anticorps précipitants apparaissent nettement plus faibles dans la bilharziose à *S. haematobium*.

3° L'utilisation des antigènes homologues à l'espèce incriminée mérite d'être discutée.

Dans le cas des bilharzioses à *S. mansoni* et à *S. haematobium*, où les deux espèces en cause, de structure antigénique extrêmement voisine, ne diffèrent surtout que quantitativement, l'utilisation indifférente d'extraits antigéniques de l'une ou de l'autre des espèces est possible. Le gain de sensibilité réalisé en utilisant l'espèce homologue étant soit le fait d'un rapport antigène-anticorps plus favorable à la réaction, soit dû, dans certains cas, à la révélation d'une précipitine privilégiée apparemment spécifique de l'infection à *S. haematobium*.

Il en est très différemment de la bilharziose à *S. japonicum* où des arguments, tirés de l'étude immuno-électrophorétique comparée des trois espèces et de leur analyse par les sérums de sujets atteints de bilharziose à *S. japonicum*, permettent en effet de penser que *S. japonicum* diffère notablement dans sa structure antigénique des deux autres espèces de schistosomes. Ceci implique, sur le plan pratique, la nécessité d'utiliser, dans les tests immunologiques préconisés dans la bilharziose à *S. japonicum*, l'antigène correspondant.

4° La confrontation des éléments cliniques obtenus au cours de cette enquête, avec les résultats immunologiques, suggère que, dans la bilharziose à *S. haematobium* et plus encore dans la bilharziose à *S. mansoni*, il existe une relation, récemment confir-

mée par les auteurs sud-américains, entre le gradient clinique et les réactions immunitaires du malade. Les systèmes précipitants sont qualitativement et quantitativement plus fréquents et plus nombreux dans les formes avec hépato-splénite que dans celles qui sont apparemment purement vésicales ou intestinales. L'interprétation de tels faits est évidemment des plus complexes et l'expérimentation animale dont nous relatons plus loin les résultats tente une telle approche. Leur connaissance nous apparaît néanmoins devoir être prise en considération dans l'appréciation de la nature des relations hôte-parasite, au cours des schistosomoses humaines et des réactions immunitaires que ces affections déterminent.

5° Enfin, la recherche des réactions aspécifiques de l'organisme a été effectuée par la mise en évidence de la protéine anti-C. Fréquente dans la bilharziose à *S. haematobium*, elle est constante dans les sérums des bilharziens à *S. mansoni* et *S. japonicum*.

Dans l'intention d'apporter aux questions que soulèvent quelques résultats de ce travail, et d'en préciser certains aspects que les difficultés matérielles nous ont empêché d'envisager chez l'homme, nous avons procédé à une étude des précipitines au cours des bilharzioses expérimentales du hamster, du singe, du lapin.

La troisième partie de ce travail en expose les résultats.

Les Précipitines dans les Bilharzioses expérimentales

Au vu des résultats obtenus avec les sérums humains, il semblait qu'une appréciation statistiquement importante des réactions immunitaires à l'agression bilharzienne puisse nous apporter les compléments d'information indispensables à la compréhension des mécanismes complexes, intervenant dans la relation entre la réponse de l'hôte et le stade clinique de l'infection parasitaire.

Dans ce but, nous avons étudié, avec les mêmes méthodes que celles utilisées dans l'exploration humaine, les sérums provenant d'un lot important d'animaux soumis à l'infection bilharzienne par les trois espèces de schistosomes humains et dont nous détaillons ici les résultats qu'ils nous permirent d'obtenir.

Matériel

L'infection du hamster par plus de 300 cercaires de *S. mansoni*, ne permettant pas en général une survie de l'animal au-delà du 55^e jour d'évolution de la maladie, nous avons soumis les 105 hamsters utilisés dans ce travail à une dose infectante moyenne de 100 furcocercaries.

Vingt-cinq d'entre eux ont plus particulièrement permis l'étude chronologique de l'apparition des anticorps précipitants par des saignées répétées à des intervalles de deux semaines pendant cinq mois.

A de rares exceptions près (mentionnées dans le texte), tous les hamsters furent sacrifiés en fin d'expérience et trouvés porteurs de 20 à 25 couples de schistosomes adultes.

Nous avons disposé des sérums suivants :

- 330 sérums de hamsters dorés se répartissant comme suit : 216 sérums provenant de 105 hamsters infectés par 100 cercaires de *S. mansoni* chacun ; 114 sérums provenant de 65 hamsters infectés par 300 cercaires de *S. haematobium* chacun (7) ;
- 3 sérums provenant de trois lapins expérimentalement infectés par *S. japonicum* ;
- 33 sérums de singes expérimentalement infectés par *S. mansoni* ou *S. haematobium* prélevés à des dates variables après une infection d'intensité connue et répartis de la façon suivante : 5 sérums provenant de cinq singes (*Cercopithecus*) infectés par *S. mansoni* ; 28 sérums provenant de sept singes (*Babouins*) infectés par *S. haematobium*.

RÉCOLTE DES SÉRUMS

Les prises de sang sont effectuées à l'aide de pipettes Pasteur par ponction au niveau du sinus veineux de l'angle interne de l'œil. Le sang ainsi récupéré est placé dans des tubes à hémolyse qui sont bouchés et laissés à la température ambiante pendant 12 heures.

Ces tubes sont ensuite centrifugés 10 minutes à 7.000 tours par minute et les sérums sont immédiatement testés ou placés à -20°C dans des tubes scellés.

I. — Bilharziose expérimentale à *Schistosoma mansoni*

a) ÉTUDE QUALITATIVE ET CHRONOLOGIQUE.

Les sérums de 105 hamsters prélevés à des dates variables de l'infection par *S. mansoni* ont été étudiés par les techniques d'immuno-diffusion précédemment décrites. L'antigène utilisé pour cette expérience est l'extrait standard *S. mansoni* adulte. Ces sérums ont été divisés en plusieurs lots chronologiquement différents.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau V.

L'analyse des résultats montre que :

1° L'extrait de *S. mansoni* adulte ne révèle pas, quelle que soit la technique utilisée, les précipitines avant la quatrième semaine d'infection. A cette époque, quelques sérums ont révélé un arc de précipitation. On notera que les sérums donnant deux arcs

(7) L'infection du hamster par 300 cercaires de *S. haematobium* permet une récolte moyenne, après 90 jours d'évolution, de 60 vers adultes. Bien que le taux d'infection par *S. haematobium* apparaisse supérieur à celui adopté pour *S. mansoni*, le taux de parasitisme est donc sensiblement homogène dans les deux groupes.

TABLEAU V. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène *S. mansoni* adulte dans les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection

[illegible]

proviennent d'animaux massivement infectés et porteurs, à l'autopsie, de plus de 100 couples de vers adultes (8).

2° Les sérums prélevés entre le 40^e et le 57^e jour, période contemporaine de la ponte, révèlent un taux de précipitines se traduisant par zéro à deux arcs en double diffusion et par zéro à trois arcs en immuno-électrophorèse. Un nombre important de sérums reste négatif. Comme dans le groupe précédent, le taux des précipitines apparaît nettement plus élevé chez les hamsters massivement infectés.

3° A partir de la huitième semaine d'évolution, tous les sérums étudiés ont donné lieu à des réactions positives.

On constate du 57^e au 83^e jour des réactions variant de deux à six arcs en double diffusion et de un à huit arcs en immuno-électrophorèse.

Du 122^e au 164^e jour, elles varient de huit à neuf arcs en double diffusion et de sept à dix-huit arcs en immuno-électrophorèse.

(8) Les sérums provenant de tels animaux sont indiqués d'un astérisque dans le tableau.

4° Les anticorps précipitants anti-adultes apparaissent donc à une période contemporaine de la maturité sexuelle et de la ponte, ils vont progressivement croissant pour atteindre, à partir du 122^e jour de l'infection, des taux remarquablement élevés (photos n°s 3, 4, 5). La progression, suggérée par ces résultats, du taux des anticorps précipitants, nous a incité à étudier leur apparition chronologique. Nous avons, dans cette intention, étudié tous les 15 jours, par les deux techniques immunologiques, les sérums de 25 hamsters infectés par *S. mansoni* (tableau VI).

Le tracé des courbes obtenues confirme, ainsi que le laissait pressentir l'étude globale, l'apparition tardive, à la sixième semaine d'infection, des anticorps précipitants anti-adultes et leur évolution progressive et rapide, dès cette époque, vers des taux très importants, puisque 18 systèmes précipitants peuvent être identifiés chez certains hamsters.

Ces faits, en démontrant pour la première fois l'extrême variété des antigènes potentiels des Schistosomes adultes dans la bilharziose expérimentale à *S. mansoni*, révèlent les remarquables possibilités analytiques qu'offre l'analyse immuno-électrophorétique dans cette affection parasitaire.

EVOLUTION ULTÉRIEURE DES PRÉCIPITINES

Nous n'avons pu, pour des raisons matérielles, poursuivre en moyenne au-delà du cinquième mois l'étude de l'évolution des précipitines chez les hamsters infectés.

Néanmoins, nous avons pu effectuer l'analyse immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte par les sérums de deux hamsters infectés depuis 27 semaines. Alors qu'à la 20^e semaine, 18 arcs de précipitation étaient décelés dans le sérum des deux hamsters, 15 arcs étaient observés à la 24^e semaine et 13 arcs à la 27^e semaine. Bien que très limitée, cette observation suggère que le taux de précipitines puisse décroître au-delà d'un certain délai d'évolution morbide, comme cela est d'ailleurs le cas dans d'autres helminthiases, distomatose en particulier.

b) LOCALISATION DES FRACTIONS.

L'analyse immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte, par des sérums de hamsters infectés depuis 122 à 164 jours, permet de révéler de 12 à 18 arcs de précipitation. Trois sérums ont permis d'individualiser par immuno-électrophorèse 18 fractions qui ont été numérotées de 1 à 18, suivant leur position de la zone cathodique à l'extrémité anodique de la lame (schéma 7, photo n° 7). Parmi ces 18 fractions, 14 sont majeures et fréquemment mises en évidence.

Le tableau VII résume leur fréquence relative et leur ordre d'apparition au cours de l'infection. Deux fractions méritent une particulière mention :

1° La fraction 4 possède les mêmes caractéristiques immuno-électrophorétiques que la fraction 4 révélée par les hyperimmunsérums de lapin, identité confirmée par l'épreuve de la fente courte. Cependant, l'anticorps qui lui correspond ne semble pas, dans la bilharziose expérimentale du hamster, d'apparition aussi précoce que chez

SCHÉMA 7. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte révélé par le sérum d'un hamster infecté par *S. mansoni* depuis 164 jours. Dix-huit systèmes précipitants sont individualisés

l'animal artificiellement immunisé. L'analyse des tableaux VII et VIII permet en effet de constater que, si dans les 56 sérums analysés, elle est révélée 46 fois, sa fréquence est cependant variable en fonction de la chronologie. Pratiquement absente au début de l'infection, la précipitine correspondante qui apparaît, avec une nette fréquence, à partir du 67^e jour (82 %), est constante à partir du quatrième mois.

A ce stade, sa particulière intensité en fait une fraction majeure de l'immuno-électrophorégramme.

Ces caractères, joints à sa spécificité démontrée expérimentalement (Biguet et coll., 1962, Capron et coll., 1965), confèrent à la fraction 4 et à la précipitine qu'elle détermine un intérêt diagnostique évident.

2° Une seconde fraction, dénommée 8, de l'immuno-électrophorégramme, attire notre attention par sa fréquence et l'intensité du système précipitant qui lui correspond.

Nous n'avons pu jusqu'ici l'identifier avec certitude à une fraction révélée par les hyperimmunsérums de lapin. Cependant, la précocité d'apparition de la précipitine qu'elle suscite doit être signalée : on la retrouve dans six des neuf sérums positifs entre le 40^e et le 55^e jour, cette fréquence étant d'ailleurs relative, puisque sur les dix-sept sérums de ce lot, huit sont négatifs. L'arc 8, qui paraît correspondre à une fraction antigénique importante dans la bilharziose du hamster, n'est cependant jamais observé avec la même constance que l'arc 4.

L'intérêt qui s'attache à l'étude ultérieure de cette fraction antigénique n'est toutefois pas négligeable : la fréquence d'apparition de la précipitine qu'elle peut dans certains cas susciter tant chez l'homme que chez l'animal incite à une étude précise de sa spécificité, particulièrement à l'égard des autres espèces de schistosomes. (Les résultats préliminaires obtenus sont exposés à la fin du présent chapitre).

Deux autres fractions ont également attiré notre attention :

1° La fraction 7, particulièrement fréquente au début de l'affection et qui devient constante à partir du 85^e jour d'évolution. Les recherches antérieures concernant la structure antigénique des helminthes effectuées par Biguet et coll. (9) ont montré que cette fraction antigénique était présente dans la plupart des extraits helminthiques étudiés. Son manque de spécificité en diminue dès lors notablement l'intérêt.

2° La fraction 15, presque aussi souvent révélée, est elle aussi constante à partir du 122^e jour d'évolution. Il s'agit cependant d'une fraction antigénique mineure, peu caractéristique, et dont l'intérêt diagnostique est difficile à préciser.

Il nous est apparu, à ce stade de nos recherches, que l'analyse immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte par les sérums de hamsters permettait une excellente approche de la connaissance des réactions immunitaires dans les bilharzioses.

Il restait toutefois à envisager l'intérêt tant théorique que pratique que pouvait revêtir l'utilisation d'extraits d'autres stades évolutifs de *S. mansoni*.

Nous exposerons les résultats de cette expérimentation.

(9) Dans la publication de ces auteurs, elle correspond à la fraction 8 de l'extrait antigénique *S. mansoni*.

L'allure différente qu'elle affecte sur nos immuno-électrophorégrammes s'explique fort bien par les modifications qu'entraîne l'utilisation du gel d'agarose comme support.

TABLEAU VII. — Fréquence des différentes fractions de l'antigène *S. mansoni* adulte révélées en immunoelectrophorèse par les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection. Seuls, les sérums positifs en immuno-electrophorèse sont utilisés dans cette statistique

Age (jours)	Nombre	N° de l'arc																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
40 à 57 ..	9	—	2	1	1	—	—	6	6	—	2	—	—	—	—	1	1	—	—
67 à 83 ..	6	—	2	—	5	—	1	5	3	—	3	—	1	—	2	4	1	—	1
85 à 113 ..	24	13	11	10	23	7	9	24	21	6	15	4	14	11	15	22	13	1	5
122 à 164 ..	17	15	16	12	17	12	8	17	16	5	15	6	13	14	13	17	14	8	13

Age des sérums (jours)	Nbre de sérums positifs	Arc 4	
		⊕	%
40 à 57 ..	9	1	11
67 à 83 ..	6	5	82
85 à 113 ..	24	23	96
122 à 164 ..	17	17	100

TABLEAU VIII. — Fréquence de la fraction 4 de l'antigène *S. mansoni* adulte révélée en immunoelectrophorèse par les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection. Seuls les sérums positifs en immuno-electrophorèse sont utilisés dans cette statistique

c) LES ANTICORPS SPÉCIFIQUES DU STADE ÉVOLUTIF.

L'utilisation d'extraits de divers stades évolutifs de *S. mansoni* autres que les vers adultes pour déceler les précipitines dans les schistosomoses humaines ou expérimentales a été envisagée ces dernières années par divers auteurs. Après Oliver-Gonzalez (1955), qui montrait les taux élevés des précipitines anticercariennes au début de l'infection, Smithers (1960-1962) analysait, par la technique d'Ouchterlony, divers extraits de schistosomes et montrait que la meilleure réaction était obtenue avec l'antigène œuf. Kagan et Norman (1963) individualisaient des systèmes précipitants différents dans l'extrait cercarien et l'extrait adulte, Kent (1963) localisait, par immuno-électrophorèse, un système cercarien différent du système précipitant adulte.

Soulsby (1963), J. F. Kent (1963) et Thorson (1963) entreprenaient des travaux similaires chez différents helminthes. Capron et coll. (1965), par l'étude antigénique comparée des adultes et des divers stades larvaires de *S. mansoni*, dont nous rappelons l'essentiel des résultats au début de ce travail, mettaient en évidence des fractions spécifiques du stade cercarien. Il pouvait apparaître, dès lors, qu'à des différences qualitatives entre les divers stades évolutifs, puisse correspondre l'apparition chez l'hôte d'anticorps différents, dépendant du stade de l'infection, comme cela a été démontré pour la trichinose par Oliver-Gonzalez (1963) et Kent (1963).

En 1965, Kronman étudiait l'antigène cercaire de *S. mansoni* et isolait neuf fractions antigéniques. Après purification, il mettait en évidence deux fractions antigéniques de la cercaire induisant la production d'anticorps correspondants chez l'homme porteur d'une infection chronique par *S. mansoni*.

Dans cette intention, les divers antigènes suivants furent soumis à l'analyse immuno-électrophorétique par des sérums de hamsters, correspondant à des stades variés de l'infection bilharzienne :

- antigène *S. mansoni* ;
- antigène cercaire *S. mansoni* ;
- antigène œuf *S. mansoni* ;
- antigène d'incubation *S. mansoni*.

α) Les anticorps précipitants anticercariens.

Nous avons révélé l'extrait antigénique de cercaire *S. mansoni* à l'aide de 78 sérums de hamsters infectés et dont le prélèvement fut effectué à des dates variables de l'infection parasitaire. Comme pour l'étude précédente, réalisée avec l'extrait adulte, les sérums ont été groupés en lots chronologiquement différents.

Les résultats observés sont rassemblés dans le tableau IX.

D'une manière générale, bien que l'extrait cercarien permette d'observer comme l'extrait adulte une augmentation constante et rapide du taux d'anticorps, le nombre de systèmes précipitants révélés en immuno-électrophorèse n'atteint jamais un taux aussi élevé qu'avec *S. mansoni* adulte. Le détail de cette comparaison est fourni par les tableaux X et XI. Ceux-ci permettent par ailleurs les observations suivantes :

— Du 25° au 30° jour de l'évolution, alors que l'antigène *S. mansoni* adulte ne permet de révéler aucune précipitine, l'antigène cercaire permet de révéler, en Ouchterlony, un ou deux arcs de précipitation. L'immuno-électrophorèse, moins sensible, est négative.

— Du 40° au 57° jour, tous les sérums testés sont positifs : un à quatre arcs de précipitation peuvent être mis en évidence, aussi bien en Ouchterlony que par immuno-électrophorèse. Ces résultats sont très nettement supérieurs à ceux que permet d'obtenir l'antigène adulte.

— A partir du 67° jour, l'antigène cercaire donne par contre des résultats nettement moins favorables, le nombre de systèmes précipitants qu'il révèle étant généralement inférieur à ceux de l'antigène adulte (photo n° 3). Il apparaît en définitive qu'avant la période de maturation sexuelle, et de ponte des schistosomes, l'antigène cercaire permet de révéler dans la bilharziose expérimentale des précipitines d'apparition précoce que ne décèle pas l'antigène adulte. Ces observations qui confirment et précisent celles que fit Oliver-Gonzalez (1955) par la technique du « ring-test » peuvent trouver leur explication soit dans l'existence de fractions antigéniques spécifiques du stade évolutif et déterminant la production précoce des précipitines correspondantes, soit dans des différences quantitatives intéressant certaines fractions et conduisant à des rapports antigène-anticorps plus favorables. Nous avons tenté, par l'analyse comparée des immuno-électrophorégrammes, d'obtenir ces précisions.

Localisation des arcs de précipitation.

Nous avons analysé l'antigène cercaire *S. mansoni* par les sérums de hamsters parasités depuis 24 semaines.

L'immuno-électrophorèse permet d'individualiser 13 arcs de précipitation numérotés de 1 à 13 de la cathode à l'extrémité anodique (schéma 8, photo n° 8).

La confrontation des immuno-électrophorégrammes de l'antigène cercaire obtenus à des dates variables au cours de l'infection avec ceux réalisés aux mêmes dates avec l'antigène adulte permet d'attirer plus particulièrement l'attention sur trois arcs de précipitation qui, par leur fréquence, leur intensité ou leur précocité d'apparition, sont susceptibles de revêtir un intérêt diagnostique (10).

1° La fraction 3, toujours très marquée en intensité, est d'apparition précoce. Individualisée dès le 40° jour dans 5 sérums sur 14, la précipitine correspondante est pratiquement constante au-delà du 80° jour.

La fraction 3 possède des caractères électrophorétiques identiques à ceux de l'arc décrit et figuré par Kent (1963). Il s'agit, selon toute vraisemblance, de la même fraction.

Nous n'avons pu toutefois la considérer comme spécifique du stade cercarien. En effet, si les sérums de hamsters récemment infectés ne la révèlent pas dans l'antigène *S. mansoni* adulte, les sérums de 80 jours et plus la révèlent constamment. La confir-

(10) L'évolution comparée, au cours de la bilharziose à *S. mansoni* du hamster, des systèmes précipitants relatifs aux antigènes *S. mansoni* adulte et cercaire *S. mansoni*, est figurée dans la planche n° 1.

SCHÉMA 8. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène cercaire *S. mansoni* révélé par le sérum d'un hamster infecté par *S. mansoni* depuis 170 jours. Treize systèmes précipitants sont individualisés

TABLEAU IX. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène cercaire *S. mansoni* dans les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection.

[illegible]

TABLEAU X. — Comparaison en double diffusion du nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. mansoni* adulte et cercaire *S. mansoni* dans les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection.

[illegible]

mation de son identité avec la fraction 3 du diagramme *S. mansoni* adulte nous a été apportée par la technique de la fente courte.

Il s'agit donc d'une fraction présente dans les deux extraits antigéniques, mais que des différences quantitatives permettent de révéler plus précocement dans l'antigène cercarien.

2° L'arc 9, d'intensité moindre, est particulièrement fréquent dans les sérums de hamsters récemment infectés. La précipitine correspondante est d'apparition précoce puisque individualisée 12 fois sur 14 dans les sérums de 40 à 57 jours. Les caractères de migration et de diffusion l'apparentent à l'arc 8 du diagramme de *S. mansoni* adulte. Bien que nous n'ayons pu en apporter la confirmation absolue, ces faits s'accordent bien avec les résultats observés avec l'antigène *S. mansoni* adulte, la fraction 8 étant à cette époque de l'infection fréquemment révélée.

3° L'arc 2 nous paraît mériter le plus grand intérêt : arc d'une grande finesse, aux caractères de migration et de diffusion très particuliers, il n'est jamais révélé dans l'antigène adulte.

Ces caractères l'apparentent à la fraction correspondante de l'extrait cercarien analysé par les sérums de lapin immunisés avec l'antigène homologue. Nous avons pu étudier sa spécificité vis-à-vis de l'antigène adulte et la confirmer par les épreuves de saturation.

Il s'agit donc d'une fraction antigénique qui apparaît dans l'état actuel de nos connaissances spécifique du stade cercaire. L'intérêt de son observation se double du fait que la précipitine correspondante est d'apparition relativement précoce et qu'elle est constante à partir du 60^e jour.

Elle est en effet révélée :

- 7 fois sur 14, du 40^e au 50^e jour ;
- 3 fois sur 3, du 67^e au 83^e jour ;
- 7 fois sur 7, du 85^e au 113^e jour ;
- 7 fois sur 7, du 122^e au 164^e jour ;
- 2 fois sur 2, du 170^e au 192^e jour.

L'étude de cette fraction nous paraît montrer le plus grand intérêt. Sur des plans théoriques et pratiques, la démonstration de l'existence d'une fraction spécifique au stade cercaire et de l'anticorps correspondant constitue la première confirmation expérimentale des observations de Oliver-Gonzalez et coll. (1955 *b*) et des hypothèses de nombreux auteurs (Lincicome, 1962) (11).

(11) La Fraction « 4 » qui semble posséder une spécificité générique n'est pas relevée dans l'extrait cercarien du début de l'infection expérimentale du hamster et vraisemblablement par suite de différences quantitatives, n'est pas observée ultérieurement avec la même constance que dans l'extrait adulte.

o Antigène cercaire *S. mansoni*

o Antigène *S. mansoni* adulte
 PLANCHE n° 1. — Evolution comparée, au cours de la bilharziose à *S. mansoni* je trois hamsters,
 des systèmes précipitants relatifs aux antigènes *S. mansoni* adulte et cercaire *S. mansoni*

TABLEAU XII. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène œuf *S. mansoni* dans les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection (Technique d'Abelev et Zvetkov)

Age des sérums (Jours)	Nombre de sérums	Nombre d'arcs												
		Nég.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
25 à 30 ..	3	1	2											
40 à 57 ..	4	2		1			1							
67 à 83 ..	3	1	1				1							
85 à 113 .	4						1	1	1		1			
122 à 164 .	6									3	1		1	1

TABLEAU XIII. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. mansoni* adulte et œuf *S. mansoni* dans les sérums de cinq singes infectés par *S. mansoni*

Sérum N°	Durée de l'infection	Ouchterlony		Immuno-électrophorèse			
		<i>S. mansoni</i> adulte	Œuf <i>S. mansoni</i>	<i>S. mansoni</i> adulte	Arc 4	Œuf <i>S. mansoni</i>	Arc 4
1	3 mois	1	4	0	—	5	+
2	3 mois	2	5	2	+	3	+
3	3 mois	3	6	3	+	4	+
4	3 mois	3	6	2	+	6	+
5	47 mois	5	5	5	+	4	+

β) *Anticorps anti-œuf.*

Nous avons analysé un extrait antigénique d'œufs de *Schistosoma mansoni*, par les sérums de 20 hamsters répartis en cinq groupes chronologiques. Pour des raisons matérielles, cette expérience n'a pu être effectuée que par la seule réaction d'Ouchterlony.

Les observations de Smithers (1960-1962) nous ont incité par ailleurs à reprendre l'expérimentation de cet auteur en effectuant l'analyse comparée d'extraits d'œufs et d'adultes de *S. mansoni*, par des sérums de singes expérimentalement infectés.

Les tableaux XII et XIII rassemblent les résultats que nous avons obtenus. Ceux-ci confirment parfaitement les résultats de Smithers (1960-1962), et l'analyse immunoelectrophorétique, non effectuée par cet auteur, montre en particulier les résultats supérieurs que permet l'extrait ovulaire dans la révélation des précipitines.

Chez le hamster, la comparaison des tableaux XII et V montre que le nombre de systèmes précipitants de l'antigène œuf est, à partir de la période de maturation sexuelle et de ponte, supérieur à celui que révèle l'extrait adulte. L'observation de 12 systèmes différents suggère que le rôle antigénique de l'œuf dans les bilharzioses expérimentales est loin d'être négligeable (photo n° 3).

Néanmoins, bien que l'intérêt de l'étude des fractions spécifiques du stade œuf soit indéniable, l'utilisation pratique de l'extrait antigénique ovulaire restera toujours limitée par la difficulté de récolter en quantité suffisante, pour les tests d'immunodiffusion, le matériel brut nécessaire.

γ) *Anticorps anti-produits d'incubation.*

Nous avons analysé, en double diffusion, les produits d'incubation de *S. mansoni*, par les sérums de 30 hamsters répartis en cinq groupes chronologiques.

Les résultats rassemblés dans le tableau XIV permettent de noter que les réactions sont sensiblement comparables à celles obtenues avec l'extrait *S. mansoni* adulte, dans les divers lots de hamsters étudiés. Ceci est parfaitement concordant avec les données que l'analyse de ces mêmes antigènes, par les sérums de lapin hyperimmunisés, a permis d'obtenir. Plus de la moitié des fractions antigéniques révélées dans l'extrait adulte sont en effet mises en évidence dans les produits d'incubation. L'ensemble de ces résultats amène à croire que les produits d'excrétion occupent une place importante dans les systèmes précipitants qui peuvent être mis en évidence au cours des bilharzioses (photos n°s 4 et 5).

II. — Bilharziose expérimentale à *Schistosoma haematobium*

a) ÉTUDE QUALITATIVE ET CHRONOLOGIQUE.

Nous avons pu disposer, pour cette expérimentation, de 65 hamsters infectés par 300 cercaires de *S. haematobium*, et dont les sérums ont été prélevés à des dates variables de l'évolution de l'infection parasitaire.

Pour des raisons matérielles tenant à la difficulté d'obtention, en quantité suffi-

sante, de l'antigène *S. haematobium*, la majorité des sérums ont été étudiés avec l'extrait *S. mansoni*. Seul un lot limité d'entre eux a pu faire l'objet d'une étude comparative avec l'extrait *S. haematobium*.

Si l'on tient compte des remarques précédemment exposées concernant la parenté antigénique des deux espèces, l'interprétation des résultats obtenus et leur confrontation avec ceux fournis par les hamsters infectés par *S. mansoni* sont cependant possibles.

Le tableau XV rassemble les données fournies par les techniques de double diffusion en gélose et l'immuno-électrophorèse dans l'analyse de l'antigène *S. mansoni*, par les sérums de hamsters infectés par *S. haematobium*.

Il est à noter que les sérums d'un lot de 30 hamsters infectés depuis 96 à 128 jours précipitent en double diffusion d'un à trois arcs dans 75 % des cas, la fréquence maximum (50 %) concernant deux arcs révélés.

Un deuxième lot de 22 sérums prélevés entre le 131^e et le 167^e jour donne dans 68 % des cas de deux à trois arcs de précipitation par la technique d'Abelev et Zvetkov.

Avec 27 sérums de hamsters infectés par *S. haematobium* et prélevés entre le 173^e et le 412^e jour, nous observons, grâce à la même technique, et dans la majorité des cas, un nombre d'arcs de précipitation variant de deux à quatre. A ce stade ultime, un pourcentage minime des sérums donne cinq ou six arcs.

De la comparaison de ces résultats avec ceux obtenus dans le cadre de la bilharziose expérimentale à *S. mansoni* du hamster (voir le tableau V), on peut établir les remarques suivantes :

1° Les résultats obtenus avec les sérums de hamsters infectés par *S. haematobium* et prélevés entre le 96^e et le 128^e jour d'une part, et les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et prélevés entre le 40^e et le 57^e jour d'évolution d'autre part, sont très comparables et rendent compte d'une corrélation satisfaisante entre le nombre d'arcs observés et la période de maturité sexuelle et de pontes respectives de ces deux espèces.

2° L'accroissement remarquable à partir du 67^e jour du taux des précipitines chez le hamster infecté par *S. mansoni* n'est pas retrouvé dans le cas de la bilharziose expérimentale à *S. haematobium* : à partir du 131^e jour, le maximum d'arcs observés passe de deux arcs à un chiffre de deux à quatre arcs et se stabilise jusqu'à la fin de l'évolution de l'infection parasitaire.

3° Le nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les diverses techniques utilisées, dans les sérums des hamsters infectés par *S. haematobium*, n'est jamais aussi élevé que dans la bilharziose expérimentale à *S. mansoni* du hamster.

En immuno-électrophorèse, les résultats obtenus avec les sérums de hamsters infectés par *S. haematobium* montrent de la même façon la moindre intensité des réponses, les résultats étant par ailleurs moins homogènes. Le maximum de fractions révélées par cette méthode est de douze, et ceci, pour un seul des sérums testés.

L'observation que nous avons pu faire à propos des sérums humains semble donc également valable dans la bilharziose expérimentale : le taux de précipitines formées

TABLEAU XIV. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène d'incubation *S. mansoni* dans les sérums de hamsters infectés par *S. mansoni* et répartis selon la durée de l'infection (Technique d'Abelev et Zvetkov).

Age des sérums (Jours)	Nombre de sérums	Nombre d'arcs										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
25 à 30 ..	3	2	1									
40 à 57 ..	11	4	3	2	2							
67 à 83 ..	4				4							
85 à 113 .	6				1		1	2	1			1
122 à 164 .	6				1	2	2	1				
Total	30											

TABLEAU XV. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par l'antigène *S. mansoni* adulte dans les sérums de hamsters infectés par *S. haematobium* et répartis selon la durée de l'infection.

Age des sérums (Jours)	Nombre de sérums	Technique d'Abelev et Zvetkov							Nombre de sérums	Immuno-électrophorèse												
		0	1	2	3	4	5	6		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
96 à 128	30	3	4	15	6	1	1		6	2	1	1	2									
131 à 167	22	1	1	7	8	2	2	1	6			1			1	2	1				1	
173 à 233	15	2	1	4	3	3	1	1	13		1	2	1	1			3	3	1			1
250 à 412	12		2	4	4	1		1	10		4	1		2			2	1				

dans la bilharziose à *S. haematobium*, tant humaine qu'animale, apparaît généralement inférieur à celui que l'on constate dans la bilharziose à *S. mansoni*. Les différences peuvent être appréciées à la fois qualitativement par le nombre d'arcs révélés et quantitativement par l'intensité de ces derniers.

Ces résultats pouvant apparaître liés à l'utilisation d'un antigène hétérologue, nous avons procédé à une étude limitée de l'analyse de l'antigène *S. haematobium* par les sérums de hamsters infectés par ce schistosome.

Dix hamsters furent ainsi étudiés. Le maximum d'arcs observés en double diffusion, qui était de six avec l'extrait *S. mansoni*, a été dans certains cas de sept à huit arcs avec l'extrait *S. haematobium*. De même en immuno-électrophorèse, nous avons généralement observé un arc supplémentaire, grâce à l'utilisation de l'antigène homologue.

L'un des sérums particulièrement favorable à l'analyse a permis de révéler 12 arcs avec *S. mansoni*, 13 arcs avec *S. haematobium*.

Cette constatation confirme, ici encore, les remarques faites à propos des sérums humains. La très grande parenté antigénique des deux espèces explique parfaitement ces faibles différences, le plus souvent d'ordre quantitatif ou parfois peut-être liées à l'existence d'une fraction spécifique.

b) LOCALISATION DES ARCS.

Le diagramme électrophorétique de l'antigène *S. haematobium*, révélé par un antisérum de hamster infecté par *S. haematobium*, permet de dénombrer jusqu'à 13 fractions antigéniques. Ces fractions ont été numérotées de 1 à 13, selon leur position de la zone cathodique à l'extrémité anodique de la lame (schéma 9).

La fraction 7 de ce diagramme correspond à la fraction spécifique de *S. haematobium*, mise en évidence par épuisement d'un hyperimmunsérum *S. haematobium* de lapin par l'antigène *S. mansoni* 1 %.

D'autre part, la fraction 3 s'apparente parfaitement avec la fraction 4 de l'antigène *S. mansoni*.

Elle apparaît aussi fréquente dans les sérums positifs que la fraction 4 dans les sérums de hamsters *S. mansoni*.

c) Nous avons complété cette expérimentation par l'étude de quelques sérums de singes infectés par *S. haematobium*.

Nous avons disposé de 28 sérums provenant de sept singes expérimentalement infectés par 1.000 à 3.000 furcocercaires (sans que la dose de cercaires semble influencer sur les résultats).

Tous les sérums ont été étudiés par la technique d'Abelev et Zvetkov avec l'extrait *S. mansoni* 1 %.

Les sérums négatifs ont été testés avec l'extrait de cercaire *S. mansoni* 1 %.

Le tableau XVI résume les résultats obtenus dans ces conditions.

SCHÉMA 9. — Diagrammes immuno-électrophorétiques des antigènes *S. haematobium* et *S. mansoni* adulte révélés par le sérum d'un hamster infecté par *S. haematobium* depuis 185 jours. La fraction 7 spécifique de *S. haematobium* n'est pas révélée dans l'antigène *S. mansoni* adulte. Treize systèmes précipitants sont individualisés

TABLEAU XVI. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. mansoni* adulte et cercaire *S. mansoni* dans les sérums de singes infectés par *S. haematobium*. Seuls les sérums négatifs avec l'antigène *S. mansoni* adulte ont été étudiés avec l'antigène cercaire *S. mansoni* (Technique d'Abelev et Zvetkov)

Durée de l'infection (jours)	Nbre de sérums	<i>S. mansoni</i> adulte				Nbre de sérums	Cercaire <i>S. mansoni</i>		Total des sérums +
		0	1	2	3		0	1	
70	3	3				3	1	2	2
90	7	4	3			4	2	2	5
110	7	4	2	1		4			5
130	5		1	3					5
150	6		3	3	1				6

Avant le 130^e jour, les résultats obtenus avec l'antigène *S. mansoni* adulte n'atteignent pas un pourcentage de positivité élevé. Ce pourcentage est sensiblement relevé lorsque l'on utilise l'extrait cercarien.

A partir du 130^e jour, tous les sérums sont positifs avec *S. mansoni* adulte, donnant d'un à trois arcs de précipitation.

Ces résultats concordent parfaitement avec ceux observés chez le hamster, et la positivité des réactions d'immuno-diffusion semble là encore coïncider en grande partie avec l'époque de la ponte ovulaire.

III. — Bilharziose expérimentale à *Schistosoma japonicum*

Nous avons disposé des sérums de trois lapins infectés par *S. japonicum*.

Ces sérums ont été étudiés avec les antigènes *S. japonicum* et *S. mansoni* par la méthode d'Abelev et Zvetkov et en immuno-électrophorèse avec l'antigène *S. japonicum*.

Ces résultats sont comparables à ceux que nous a fourni l'étude des sérums humains. On notera en particulier la confirmation de la parenté antigénique relativement faible de *S. japonicum* et *S. mansoni*, la révélation de la fraction 4 dont la spécificité générique est ainsi vérifiée, et, d'une manière générale, les possibilités qu'offre l'immuno-diffusion dans la bilharziose à *S. japonicum*, possibilités que laissait prévoir le premier travail de Yogore et coll. (1962).

Le tableau XVII rassemble les résultats obtenus.

TABLEAU XVII. — Nombre de systèmes précipitants mis en évidence par les antigènes *S. japonicum* et *S. mansoni* dans les sérums de trois lapins infectés par *S. japonicum*

Lapin N°	C.R.P.	Technique d'Abelev et Zvetkov		Immuno- électrophorèse <i>S. japonicum</i>	Arc 4
		<i>S. japonicum</i>	<i>S. mansoni</i>		
1	+	2	1	1	—
2	+	6	2	7	+
3	+	5	2	5	+

IV. — Les Anticorps spécifiques d'Espèce

L'étude de la structure antigénique comparée des espèces de schistosomes nous ayant montré l'existence de fractions spécifiques au niveau de chacune d'entre elles, nous avons tenté de rechercher si elles étaient susceptibles de déterminer l'apparition de la précipitine correspondante, anticorps spécifique de l'espèce incriminée, dans les bilharzioses expérimentales.

La synthèse des divers résultats précédemment exposés, obtenus par l'analyse comparée des immuno-électrophorégrammes et dans certains cas par les épreuves de saturation, amène aux conclusions suivantes :

1° La fraction 8 du diagramme *S. mansoni* adulte n'est jamais révélée dans l'antigène *S. haematobium*, et la précipitine correspondante, dont on a vu la fréquence dans les bilharzioses humaines et expérimentales déterminées par *S. mansoni*, n'est jamais mise en évidence dans les infections humaines et animales par *S. haematobium*.

2° La fraction 7 de l'antigène *S. haematobium* analysé par les sérums de hamsters s'apparente à la fraction 9 du même antigène révélé par les sérums de lapins hyper-immunisés. Les épreuves de saturation montrent qu'elle n'existe pas dans l'antigène *S. mansoni*.

La précipitine correspondante, fréquemment révélée dans les sérums de hamsters infectés par *S. haematobium*, ne l'est jamais par les sérums d'animaux infectés par *S. mansoni*.

3° Le problème des fractions spécifiques de *S. japonicum* et des précipitines correspondantes est plus complexe. La parenté antigénique moins étroite de ce schistosome avec les deux espèces précédentes, le matériel restreint dont nous avons disposé ne permettent guère de conclusion précise.

Rappelons cependant que l'analyse de l'antigène *S. mansoni* par les sérums humains ou de lapins infectés par *S. japonicum* ne révèle guère plus de trois arcs de précipitation, alors que sept arcs peuvent être obtenus avec l'antigène homologue.

A l'inverse, l'analyse de l'antigène *S. japonicum* par des sérums de hamsters *S. mansoni*, donnant avec l'extrait *S. mansoni* 12 à 18 arcs de précipitation, n'a jamais pu révéler plus de cinq fractions antigéniques.

Commentaires généraux.

Essai de synthèse

La confrontation des résultats acquis par l'expérimentation animale avec ceux concernant les bilharzioses humaines, et exposés dans la deuxième partie de ce travail, n'apparaît pas sans intérêt :

1° Dans les bilharzioses à *S. mansoni*, le nombre des antigènes potentiels responsables de la formation des précipitines, qu'il s'agisse de l'affection humaine ou de l'infection animale, apparaît beaucoup plus important que les premiers travaux, jusqu'à ce jour publiés, le suggéraient : 9 systèmes différents ont pu être identifiés dans la bilharziose humaine, 18 dans la bilharziose du hamster. L'intérêt de cette identification, outre la connaissance théorique qu'elle nous apporte du potentiel antigénique de *S. mansoni*, nous renseigne, par une analyse plus détaillée, sur le rôle privilégié joué par certaines fractions antigéniques, soit par leur importance quantitative, soit par la production précoce de la précipitine correspondante. L'intérêt particulier qui s'attache à la fraction 4 de l'antigène *S. mansoni* mérite ici d'être revu. Présente chez les trois schistosomes, dans des rapports quantitatifs variables, ainsi que dans les extraits de leurs divers stades évolutifs, comme le laisse présumer l'expérimentation menée chez *S. mansoni*, cette fraction, spécifique vis-à-vis de nombreux helminthes étudiés, apparaît très représentative du genre *Schistosoma*. Spécifique du genre dans les limites de notre expérience actuelle, elle semble douée d'un haut potentiel antigénique chez l'homme ou l'animal infecté. La précipitine qu'elle détermine, révélée à une période contemporaine de la ponte, est constamment identifiée chez l'animal, dans 80 % des cas chez l'homme.

Il serait souhaitable que des recherches ultérieures précisent sa structure chimique, ses caractères enzymatiques, étudient son rôle allergénique, envisagent son importance dans l'ensemble du genre *Schistosoma*, dans une perspective phylogénique.

La fraction 8 du même antigène qui nous est apparue dans les limites de cette expérimentation, spécifique de *S. mansoni*, revêt elle aussi un intérêt théorique et diagnostique certain. La précocité d'apparition de la précipitine qu'elle suscite en fait une fraction d'importance majeure dans la mosaïque de *S. mansoni*.

L'étude des anticorps spécifiques du stade évolutif de ce schistosome démontre, pour la première fois, l'importance immunologique de tels anticorps. Celui qu'analyse la fraction 2 de l'antigène cercaire est à cet égard significatif et suggère l'emploi de

l'extrait cercarien dans les infections bilharziennes récentes. D'une manière plus générale, l'intérêt pratique de l'antigène cercarien apparaît au moins égal à celui de l'extrait *S. mansoni* adulte, et ce, même dans les infections chroniques.

L'étude de l'antigène œuf confirme parfaitement les recherches de Smithers. Jointe aux observations faites sur la corrélation apparente de la révélation des précipitines et de la ponte des schistosomes, elle permet de supposer que le stimulus antigénique produit par les œufs a une part importante dans la production des anticorps humoraux, ce qui n'anticipe en rien de leur rôle éventuel dans le développement de l'immunité. Quant aux produits d'incubation, antigènes d'excrétion et de sécrétion, leur potentiel antigénique apparaît considérable : ils révèlent les deux tiers des systèmes précipitants révélés par l'extrait adulte, ce qui laisse envisager le rôle antigénique limité que jouent les protéines somatiques que des lyses cellulaires seraient seules susceptibles de libérer dans l'organisme de l'hôte.

2° Dans la bilharziose à *S. haematobium*, la réponse de l'organisme infecté, qu'il soit humain ou animal, apparaît moindre. Le taux des précipitines révélées est qualitativement inférieur aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Chez le hamster, le nombre des antigènes reste cependant important, puisque 13 systèmes différents peuvent être occasionnellement analysés.

L'analyse comparée des antigènes *S. mansoni* et *S. haematobium*, par les sérums de sujets ou d'animaux infectés par *S. haematobium*, permet d'identifier une fraction antigénique particulière, fraction 7 de l'immuno-électrophorégramme, dont la spécificité vis-à-vis de *S. mansoni* a pu être expérimentalement démontrée. La précipitine qui lui correspond est d'apparition précoce chez l'animal, sa présence quasi constante dans les sérums humains ou animaux positifs. Sa valeur diagnostique est donc indéniable. La connaissance d'une telle fraction paraît d'autant plus intéressante que les affinités antigéniques de *S. mansoni* et *S. haematobium* sont considérables et que, hormis cette fraction, les mosaïques antigéniques de ces deux espèces ne diffèrent entre elles que quantitativement.

3° Dans la bilharziose à *S. japonicum*, les résultats obtenus aussi bien chez l'homme que chez l'animal confirment les données obtenues par Yogore et coll.

L'analyse de la structure antigénique de *S. japonicum* confirme la parenté antigénique limitée de cette espèce avec les précédentes et incite à étudier de façon plus précise la structure immuno-chimique des diverses souches géographiques de *S. japonicum*, et des précipitines formées chez l'animal, et ce dans une perspective biologique et phylogénique.

4° L'un des buts de ce travail visait à la confrontation des réactions immuno-logiques de l'organisme parasité avec le stade évolutif de l'affection.

Chez l'homme, dans la bilharziose à *S. mansoni*, et dans une moindre mesure, dans celle déterminée par *S. haematobium*, un parallélisme assez convaincant peut être observé entre l'importance qualitative et quantitative des précipitines et le stade clinique. Les sérums de sujets porteurs de formes hépato spléniques révèlent généralement un nombre de systèmes précipitants supérieur aux autres. Ceci apparaît indé-

pendant de l'âge de l'infection : la majorité des sujets vivaient en zones endémiques et étaient dès lors soumis à l'infection dès leur enfance, et l'analyse des tableaux II et III ne permet d'établir aucun rapport entre leur âge civil et leur taux d'anticorps.

L'étude de l'évolution des précipitines chez le hamster montre jusqu'au sixième mois de l'évolution une augmentation progressive et rapide de leur taux. Cependant, au sein même des divers lots de hamsters étudiés, les résultats ne sont pas toujours parfaitement homogènes, et ce en dépit d'un taux de parasitisme rigoureusement comparable.

Ceci suggère que, indépendamment du facteur chronologique qui préside, jusqu'à un certain seuil, à la production des précipitines, l'élaboration de celles-ci est en rapport avec un facteur individuel que nous avons supposé, à la lumière des observations faites chez l'homme, lié au stade anatomique des lésions.

L'autopsie de 28 hamsters sacrifiés à des stades variés, après leur infection et dont les sérums ont été soumis à l'analyse immunologique, permet l'étude anatomique des lésions hépatiques et spléniques et l'essai d'interprétation que nous exposons maintenant.

Documents histopathologiques

L'étude histologique du foie et de la rate fut effectuée après fixation des pièces anatomiques au formol salé. Les coupes furent réalisées selon les techniques classiques utilisant la paraffine comme support. Les colorations utilisées furent : hémalum, érythrosine, safran, le trichrome de Masson, le P.A.S., l'orcéine alcoolique et le bleu d'aniline.

ANALYSE DES LÉSIONS ANATOMIQUES

Vingt-huit hamsters infectés par *S. mansoni* ont fait l'objet d'une étude anatomique portant sur les poumons, le foie et la rate.

Les poumons sont dans l'ensemble pratiquement normaux, indemnes de toute lésion spécifique de schistosomose, ce qui les différencie très nettement des poumons des animaux infectés par *S. haematobium* (Capron et coll., 1965).

Au niveau du foie, il est pratiquement constant d'observer des nodules histiocytaires centrés par des œufs et siégeant au niveau des ramifications portes. Le pigment bilharzien y est presque toujours observé. Enfin, quelques animaux présentent des anneaux de sclérose hyaline parfois très mutilante.

C'est l'étude de la rate qui nous a le plus retenu ici. Les aspects observés peuvent être référés à cinq grands types de lésions :

Type I. — Ces animaux ont une rate hyperplasique, mais cette hyperplasie n'est pas diffuse. Elle est disposée en foyers séparés les uns des autres par des zones dont l'aspect est sensiblement normal. Un tel aspect suggère qu'il s'agit là d'une hyperplasie débutante et qui, de ce fait, n'intéresse pas encore la totalité de la pulpe rouge splénique.

Type II. — Ces animaux présentent une rate dont la pulpe rouge est le siège d'une hyperplasie considérable. Lorsque la rate est examinée à un faible grossissement, on a de la peine à reconnaître la pulpe blanche en raison de la densité cellulaire extrême de la pulpe rouge. Cette densité cellulaire empêche également de reconnaître les différents éléments qui concourent à la structure de la pulpe rouge. L'hyperplasie porte sur différentes lignées cellulaires : cellules réticulaires facilement reconnaissables à leur grand noyau assez clair souvent nucléolé, histiocytes, lymphocytes, cellules de la série granuleuse dont des polynucléaires éosinophiles. Les mégacaryocytes sont rares. Cet aspect est celui d'une hyperplasie réticulo-histiocytaire très importante de la pulpe rouge.

Type III. — Il intéresse des animaux dont les lésions spléniques sont proches de celles du groupe précédent et nous les considérons comme prenant place chronologiquement immédiatement après elles. La pulpe rouge est en grande partie déshabitée : les cellules sont rares, nettement séparées les unes des autres. De ce fait, les cordons de Bilroth sont facilement identifiables. Ils sont d'ailleurs épaissis par une substance un peu grumeleuse, mal colorable par le safran, correspondant très probablement à l'apparition de la sclérose hyaline.

Type IV. — Il est observé ici des animaux dont on peut dire que la rate est le siège de lésions mixtes. Il existe, comme dans le groupe précédent, une hyperplasie en foyers, mais entre ceux-ci, c'est, soit une sclérose hyaline débutante, soit une déshabitation que l'on observe.

Type V. — Ce type concerne des animaux dont les lésions sont très différentes et inverses des types I et II. La pulpe rouge apparaît totalement déshabitée en cellules et n'est pratiquement plus représentée que par une sclérose hyaline (très discrètement safranophile, légèrement P.A.S. positive, colorée en bleu par le bleu d'aniline). Cette sclérose est disposée en travées très épaisses, isolant les uns des autres, des restes de capillaires gorgés d'hématies. La pulpe blanche enserrée par cette sclérose est en voie d'atrophie.

La confrontation des données analytiques fournies par l'étude anatomique, avec celles que les observations expérimentales et immunologiques permettent de recueillir, conduit à l'essai de synthèse suivant :

1° Un groupe de douze animaux sacrifiés entre le 80^e et le 150^e jour suivant une *infection cercarienne faible*, présente des réactions immunologiques importantes objectivées par l'existence de 7 à 14 systèmes précipitants.

L'étude anatomique de ces hamsters montre que deux d'entre eux, infectés depuis 80 jours présentent des lésions du type I correspondant à une hyperplasie en foyers vraisemblablement débutante.

Huit hamsters infectés depuis 90 à 120 jours présentent des lésions du type II correspondant à une hyperplasie globale de la pulpe rouge. Parmi eux, deux animaux ont des lésions du type III correspondant à un début de déshabitation cellulaire.

Deux hamsters infectés depuis plus de 150 jours montrent des lésions du

PHOTO N° 1

PHOTO N° 2

PHOTO N° 3

PHOTO N° 4

PHOTO N° 5

Pour les photos de 1 à 9 :

A — *S. mansoni* adulte.

B — Cercaire *S. mansoni*.

C — Incubat *S. mansoni*.

D — Œuf *S. mansoni*.

E — *S. mansoni* 20 jours.

F — C.R.P.

PHOTO N° 6

PHOTO N° 7

PHOTO N° 8

PHOTO N° 9

PHOTOGRAPHIES N°s 1 et 2. — Réactivité des sérums de deux sujets bilharziens à *S. mansoni* vis-à-vis des différents antigènes de *S. mansoni*

PHOTOGRAPHIES N°s 3 et 5. — Réactivité des sérums de deux hamsters infectés par *S. mansoni* depuis 122 jours vis-à-vis des différents antigènes de *S. mansoni*

PHOTOGRAPHIE N° 4. — Réactivité du sérum d'un hamster infecté par *S. mansoni* depuis 105 jours vis-à-vis des différents antigènes de *S. mansoni*.

PHOTOGRAPHIE N° 6. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte révélé par un immunosérum anti *S. mansoni* adulte

PHOTOGRAPHIE N° 7. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte révélé par le sérum d'un hamster infecté par *S. mansoni* depuis 164 jours

PHOTOGRAPHIE N° 8. — Diagramme immuno-électrophorétique de l'antigène cercaire *S. mansoni* révélé par le sérum d'un hamster infecté par *S. mansoni* depuis 180 jours

PHOTOGRAPHIE N° 9. — Diagramme immunoélectrophorétique de l'antigène *S. mansoni* adulte révélé par le sérum d'un sujet atteint de bilharziose à *S. mansoni*. On notera la particulière intensité de l'arc 4 spécifique de l'infection bilharzienne, l'existence de l'arc 8 spécifique de *S. mansoni*, celle de l'arc 7 commun à de nombreux helminthes

type V, la pulpe rouge apparaît déshabillée en cellules et n'est pratiquement plus représentée que par une sclérose hyaline.

2° Un groupe de 18 hamsters sacrifiés entre le 25^e et le 60^e jour après une *infection cercarienne intense*, présente des réactions immunologiques faibles objectivées par l'existence de 0 à 3 systèmes précipitants. Dans ce groupe, les aspects de la rate affectent deux types particuliers.

Six animaux *plus modérément infectés* et sacrifiés après 55 jours d'infection présentent une hyperplasie de la pulpe rouge du type I ou II.

Douze animaux *massivement infectés* et sacrifiés entre le 25^e et le 45^e jour suivant l'infection, semblent s'orienter d'emblée vers des lésions spléniques des types IV et V caractérisées par l'apparition précoce d'une sclérose hyaline sur une pulpe rouge déjà déshabillée.

COMMENTAIRES

Bien que l'essai de confrontation anatomo-immunologique auquel nous nous sommes livré doive être, en raison d'un échantillonnage insuffisant, considéré comme très préliminaire, il ouvre néanmoins la voie à des hypothèses de travail.

L'impression générale qui domine est celle de l'existence d'un parallélisme assez net, chez les animaux faiblement infectés, entre le taux des précipitines formées et l'hyperplasie dont la pulpe rouge splénique est l'objet. Parallèlement à l'évolution chronologique des anticorps précipitants se dessine une cinétique des lésions spléniques qui va de l'apparition d'une hyperplasie en foyers à l'hyperplasie globale, puis à la déshabitation cellulaire et enfin à la sclérose hyaline.

Chez les animaux massivement infectés, la réaction splénique apparaît très différente, orientée précocement vers la déshabitation cellulaire et la sclérose.

Ces observations suggèrent que la rate, dont de récents travaux ont montré le rôle immunologique général puisse avoir dans l'établissement des phénomènes immunitaires dans les bilharzioses une importance considérable. A cet égard, l'hyperplasie de la lignée lymphocytaire dont on commence à entrevoir la compétence immunologique, est à considérer.

Si ces observations venaient à être confirmées par une étude plus extensive, elles permettraient peut-être de rapprocher la splénomégalie bilharzienne de la splénomégalie palustre dont on sait les rapports qu'elle affecte avec l'établissement de l'immunité dans le paludisme.

La rate bilharzienne serait-elle une rate immunologique ?

Hypersplénisme et sclérose lui succédant en pathologie humaine s'accorderaient bien avec les observations que nous a permis aussi bien sur le plan anatomique qu'immunologique, l'expérimentation animale.

L'importance de la question est cependant telle que nous ne pouvons actuellement prétendre y apporter une réponse satisfaisante.

Conséquences pratiques

L'examen, sous un angle pratique, des résultats auxquels le présent travail a abouti, permet les conclusions suivantes :

1° Les techniques actuelles d'immuno-diffusion ne semblent pas, du fait de leur manque de sensibilité, pouvoir trouver une place de choix parmi les méthodes immunologiques de diagnostic des bilharzioses.

Leur mise en œuvre délicate, particulièrement en ce qui concerne l'immuno-électrophorèse, rend difficile leur application systématique.

Il apparaît néanmoins qu'elles constituent, pour l'analyse fine des systèmes antigène-anticorps précipitants, dans les bilharzioses humaines ou expérimentales, un apport tout à fait remarquable.

2° Hormis les possibilités diagnostiques qui restent limitées à 60 % des cas de bilharziose humaine à *S. haematobium* et à 80 % des cas de bilharziose à *S. mansoni*, leur valeur analytique s'objective surtout par la mise en évidence d'au moins neuf antigènes potentiels dans la bilharziose à *S. mansoni*, sept dans la bilharziose à *S. japonicum* et six dans la bilharziose à *S. haematobium*.

La démonstration dans chacune des espèces incriminées de l'existence d'une ou plusieurs fractions spécifiques et celle de la production chez l'homme de la précipitine qui lui correspond, rend possible dans certains cas favorables, un diagnostic spécifique de l'agent causal.

3° L'analyse comparée des extraits antigéniques des stades adultes et larvaires de *S. mansoni*, conduit à recommander dans la pratique diagnostique des tests d'immuno-diffusion :

— L'utilisation de l'antigène cercarien dans les infections récentes :

Deux des fractions de cet antigène déterminent l'apparition précoce d'une précipitine, dont l'une spécifique du stade cercaire, il revêt de ce fait une importance diagnostique indéniable ;

— Dans les infections chroniques :

L'analyse de l'antigène œuf permet la révélation d'un nombre de systèmes précipitants supérieur à celui obtenu avec l'antigène adulte. Néanmoins, les difficultés de production de l'extrait ovulaire incitent à recommander l'utilisation standard de l'extrait adulte.

A ce stade de l'affection, la révélation de la précipitine correspondant à la fraction 4 de cet extrait assure le diagnostic immunologique.

4° La confrontation chez un même malade des taux de précipitines observés et du stade clinique de la maladie, jointe aux arguments expérimentaux, permet de supposer l'existence d'une relation étroite entre les réactions immunologiques et les manifestations hépatospléniques dans les bilharzioses. Cette observation autorise à envisager l'utilisation des tests d'immuno-diffusion dans le diagnostic étiologique des splénomégalias tropicales et la démonstration de leur éventuelle nature bilharzienne.

Conclusion

Il apparaît, au terme de ce travail, que les précipitines anticorps dont la connaissance restait, dans les bilharzioses humaines et expérimentales, très fragmentaire, justifient l'importance théorique que leur accorde nombre d'auteurs dans les helminthiases.

La présente investigation ne prétend pas résoudre tous les problèmes soulevés par les diverses modalités de leur apparition dans l'organisme humain ou animal. Les difficultés qui président à l'obtention des antigènes aussi bien que des sérums humains ou animaux, n'ont pas permis que fut réalisée avec l'homogénéité souhaitée, la totalité de ces recherches.

La contribution que peuvent apporter les techniques d'immuno-diffusion à nos connaissances de l'immunité dans les bilharzioses, nous paraît, dans deux domaines, justifier d'ultérieures recherches.

L'approche théorique de la structure antigénique des schistosomes humains et animaux, l'étude de leurs fractions spécifiques, celle des précipitines qu'elles déterminent nous paraît constituer l'une des voies les plus rentables vers une connaissance plus approfondie des relations hôte-parasite, dans ce groupe d'helminthes.

Les rapports entre les phénomènes immunitaires et le gradient clinique de l'affection doivent être soigneusement considérés. L'intérêt d'une investigation étendue, dans les trois grandes bilharzioses humaines apparaît certain ; outre les données pratiques que fournirait une telle étude, les perspectives théoriques qu'elle suscite confèrent un aspect nouveau aux hypothèses que continueront de soulever, longtemps encore, les phénomènes immunitaires dans les bilharzioses.

Résumé

Le présent travail synthétise l'expérience acquise depuis 1962 au laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Lille, dans l'étude par immuno-diffusion (double diffusion et immuno-électrophorèse), des antigènes des schistosomes humains (*S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*) et des précipitines dans les bilharzioses humaines et expérimentales.

I. — L'analyse comparée de la structure antigénique de *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum* a permis de démontrer :

1° L'étroite parenté antigénique unissant *S. mansoni* et *S. haematobium*, dont les mosaïques antigéniques respectives n'apparaissent différer, en dehors des rapports quantitatifs de diverses fractions, que par l'existence de deux fractions qualitativement spécifiques qui ont pu être localisées sur l'immuno-électrophorégramme : dix-neuf fractions sur les vingt et une identifiées chez *S. mansoni*, sont communes à *S. haematobium*.

2° La parenté antigénique plus limitée existant entre *S. japonicum* et les deux espèces précédentes. Dix fractions communes entre *S. japonicum* d'une part, et *S. mansoni* ou *S. haematobium* d'autre part, ont pu être localisées.

Cette différence de structure dans un genre extrêmement homogène suggère par comparaison avec d'autres groupes d'Helminthes, l'hypothèse que la mosaïque antigénique des schistosomes, et plus généralement des vers, puisse être liée aux modalités de leur adaptation parasitaire. Les conséquences pratiques de cette disparité de structure sont envisagées.

II. — L'étude en double diffusion en gélose et en immuno-électrophorèse des précipitines formées au cours des bilharzioses à *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum* a été effectuée par l'analyse des sérums de plus de 200 sujets avec des extraits antigéniques de *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*.

Cette étude a permis, après une étude globale portant sur les sérums de 170 sujets atteints de bilharziose à *S. haematobium* :

1° De démontrer l'existence possible chez l'homme, d'au moins neuf systèmes précipitants dans la bilharziose à *S. mansoni*, six dans la bilharziose à *S. haematobium*, sept dans la bilharziose à *S. japonicum*. L'analyse comparée des antigènes des trois espèces de schistosomes par les sérums des malades, et l'étude de leurs réactions croisées, a conduit à l'identification de fractions apparemment spécifiques de chacune des trois espèces en cause.

2° La confrontation des résultats fournis par les tests d'immuno-diffusion avec le gradient clinique de l'affection confirme l'existence d'une relation entre le taux des précipitines élaborées par l'organisme humain et le stade clinique de la bilharziose. Cette notion rapportée dès 1964 par Biguet et coll. a été récemment développée par Da Silva et Ferri, au Brésil.

Le nombre de systèmes précipitants identifiés chez les sujets présentant des manifestations hépatospléniques apparaît plus élevé que chez ceux uniquement porteurs de formes vésicales ou intestinales. Ces observations outre l'intérêt pratique qu'elles présentent, méritent d'être prises en considération dans l'appréciation de la nature des relations hôte-parasite au cours des schistosomes humaines et des réactions immunitaires que ces affections déterminent.

III. — L'étude de l'évolution des précipitines au cours des bilharzioses a été entreprise chez l'animal expérimentalement infecté. 366 sérums prélevés chez l'animal à des dates variées après l'infection ont été analysés.

Essentiellement effectuée chez le hamster, cette investigation a permis les observations suivantes :

1° Dans la bilharziose expérimentale à *S. mansoni* (hamster), les anticorps précipitants anti-adulte ne sont décelés qu'à partir de la sixième semaine qui suit l'infection. Le taux des précipitines rapidement croissant, conduit à l'identification de dix-huit systèmes précipitants dans le sérum d'animaux infectés depuis vingt semaines.

La localisation des fractions et l'étude de l'ordre d'apparition des précipitines correspondantes dans les divers lots d'animaux permet de confirmer l'intérêt théorique et pratique de la fraction 4 de l'antigène *S. mansoni* adulte et de signaler la valeur diagnostique d'une autre fraction antigénique déterminant l'apparition précoce de la précipitine correspondante. L'analyse des résultats fournis par l'utilisation à des stades divers de l'infection expérimentale des extraits antigéniques des stades larvaires et des antigènes d'excrétion de *S. mansoni* démontre l'existence d'une fraction spécifiquement cercarienne qui suscite l'apparition précoce d'une précipitine non objectivée par l'extrait *S. mansoni* adulte. Treize fractions de l'extrait cercarien sont révélées par les sérums de hamsters infectés depuis vingt-quatre semaines.

Les résultats obtenus avec l'antigène œuf confirment les travaux de Smithers et permettent d'envisager l'importance du stimulus antigénique lié à l'œuf et à sa présence dans les tissus. Les antigènes d'excrétion permettent de révéler jusqu'à dix systèmes précipitants.

L'intérêt des anticorps spécifiques du stade évolutif est discuté.

2° Dans la bilharziose expérimentale à *S. haematobium*, l'étude de 65 hamsters dont les sérums furent prélevés à des dates variées de l'infection cercarienne, a conduit à l'identification de douze systèmes précipitants avec l'antigène *S. mansoni*, treize, avec l'antigène *S. haematobium*. La localisation des fractions et leur comparaison avec le diagramme fourni par *S. mansoni*, a permis d'identifier une fraction, apparemment spécifique de *S. haematobium* et déterminant la production d'une précipitine constante dans les infections chroniques.

3° L'analyse de l'antigène *S. japonicum* par les sérums de trois lapins infectés par ce schistosome, a révélé sept arcs de précipitation. Les faibles réactions croisées obtenues avec *S. mansoni* confirment la parenté antigénique limitée de ces deux espèces. Les anticorps spécifiques de l'espèce de schistosome en cause sont envisagés.

4° Une confrontation entre les résultats immunologiques et l'étude histopathologique des lésions hépatiques et spléniques chez le hamster renforce l'hypothèse évoquée chez l'homme, d'une relation étroite entre la production d'anticorps et le gradient clinique. La rate par l'hyperplasie histiocytaire dont elle est l'objet, semble être un des éléments majeurs de cette relation.

Les conséquences pratiques que suggère l'ensemble des investigations sont envisagées tant en ce qui concerne l'utilisation préférentielle des divers antigènes de schistosomes dans les tests immunologiques que les possibilités de diagnostic étiologique de splénomégalias tropicales.

L'accent est mis en conclusion sur la valeur des techniques d'immuno-diffusion dans l'étude des antigènes de schistosomes et des précipitines dans les bilharzioses, qui justifie des recherches ultérieures dont les voies générales sont suggérées.

Summary

The present study is an overall synthesis of the acquired knowledge in the laboratory of Parasitology at the University of Lille since 1962. It concerns immunodiffusion (double diffusion and immunoelectrophoresis) of the antigens of the human species of *Schistosoma* (*S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*) and the precipitins in the human as well as experimental schistosomiasis.

1) The comparative analysis of the antigenic structure of *S. mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum* made the two following assertions possible :

— The close antigenic relationship of *S. mansoni* and *S. haematobium* whose respective antigenic mosaic seem to differ, if we except the quantitative variations of certain fractions only by the existence of two qualitatively specific fractions localized on the immunoelectrophoregram : 19 fractions out of the 21 identified with *S. mansoni* are common to *S. haematobium*.

— The less close antigenic analogies existing between *S. japonicum* on one side and *S. mansoni* or *S. haematobium* on the other side : 10 fractions have been localized that are common.

This structural heterogeneity in a morphologically and biologically homogeneous genus suggests the assumption that the antigenic mosaic of the schistosomes, and of the worms in general may be linked to the different forms of their parasitical adaptation. The practical consequences of this structural disparity have been stressed.

2) The study by gel diffusion and immuno-electrophoresis of the precipitins formed in the development of human *S. mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum* schistosomiasis has been made by analysing the serum of more than 200 subjects with antigenic extracts of *S. mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum*.

This study permitted, after a global analysis of the serums of 170 subjects affected by *S. haematobium* schistosomiasis :

1st - to demonstrate the possible existence in man of at least 9 precipitin systems in *S. mansoni* schistosomiasis, 6 in *S. haematobium* schistosomiasis, 7 in that of *S. japonicum*. The comparative analysis of the antigens of the three species of *Schistosoma* by the serum of patients and the study of their cross-reactions led to the identification of apparently specific fractions of each of the three species.

2nd - the confrontation of the results given by the tests of immunodiffusion with the clinical gradient of the disease confirms the existence of an inter-relation between the rate of formation of the precipitins by the human body and the clinical stage of schistosomiasis. This notion, initiated by Biguet and coll., on record ever since 1964, has recently been further developed by Da Silva and Ferri, in Brazil.

The number of the identified precipitin systems in subjects showing hepatosplenic manifestations seems to be more important than in those solely carriers of vesical or intestinal forms. The practical interest of such observations should be further taken

under consideration in the appreciation of the nature of host-parasite relationship in human schistosomiasis and of the immunological reactions thus produced.

3) The study of the evolution of precipitins in the course of schistosomiasis has been made on experimentally infected animals. 366 serums taken from animals at different dates after the infection have been analysed.

Essentially made on hamsters, this investigation made the following remarks possible :

1st - In experimental *S. mansoni* schistosomiasis (hamster) the anti-adult precipitins are localized after 6 weeks of infection only. The rate of precipitins increasing rapidly leads to the identification of 18 precipitin systems in the serum of animals having been infected for 24 weeks.

Localization of the fractions and the study of the order of traduction of corresponding precipitins in the different groups of animals confirms the theoretical and practical interest of fraction 4 of the adult antigen *S. mansoni* and shows the diagnostic value of another antigenic fraction determining the precocious appearance of the corresponding precipitin. Analysis of the results given by use, at different stages of the experimental infection, of antigenic extracts of the larva-stage and excretion antigens of *S. mansoni* demonstrates the existence of a specifically cercarial fraction provoking precocious appearance of a non-objectivized precipitin by the adult *S. mansoni* extract.

The results obtained with egg-antigen confirm Smithers' research-work and permit to think in the possible importance of the antigenic stimulus linked to the egg and its presence in the tissues. The excretion antigens permits to reveal as many as 10 precipitin systems.

The interest of the specific antibodies of the evolutionary stage is commented upon.

2nd - In experimental *S. haematobium* schistosomiasis the study of 65 hamsters whose serums were taken at various dates after the cercarial infection has led to the identification of 12 precipitin systems with the antigen *S. mansoni*, 13 with the antigen *S. haematobium*. The localization of fractions and their comparison with the diagram given by *S. mansoni* permits to identify a fraction that is apparently specific of *S. haematobium* and determines the production of a constant precipitin in the chronic infections.

3rd - The analysis of the antigen *S. japonicum* by the serums of three rabbits infected by this schistosome revealed 7 bands of precipitation. The weak cross-reactions obtained with *S. mansoni* confirm the limited antigenic relations of these two species. The species-specific antibodies in schistosomiasis are under consideration.

4th - Confrontation of the immunologic results and the histopathologic study of hepatic and splenic lesions among the hamsters reinforces the assumption related to man, which is one of apparently tight relationship between the production of antibodies and the clinical gradient. The spleen affected by histolymphocytotic hyperplasia seems to be one of the major elements of this relation.

The practical consequences suggested by the whole of these investigations are

being developed for what concerns preferential use of the various schistosome-antigens in the immunological tests as well as the possibilities of etiologic diagnosis of the tropical splenomegaly.

To conclude with, the value of immunodiffusion techniques in the study of schistosome-antigen and precipitins in schistosomiasis is stressed, thus justifying further research whose general pattern is suggested above.

Bibliographie

- ABELEV (G. I.) et ZVETKOV (U. S.). — 1960. Extraction d'un antigène spécifique d'hépatome transplantable de souris par la méthode d'immuno-filtration. *Voprosyi Onkologii*, 6, 57 (en russe).
- BIGUET (J.). — 1964. Experimental research on *S. haematobium* and *S. mansoni*. Document du comité d'experts sur la bilharziose O.M.S., n° 3/INF/4, p. 2-5.
- BIGUET (J.), CAPRON (A.) et TRAN VAN KY (P.). — 1962. Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. I. — Etude électrophorétique et immuno-électrophorétique. Caractérisation des antigènes spécifiques. *Ann. Inst. Past.*, 103, 763.
- BIGUET (J.), CAPRON (A.) et TRAN VAN KY (P.). — 1962. Les antigènes de *Fasciola hepatica*. Etude électrophorétique et immuno-électrophorétique. Identification des fractions et comparaison avec les antigènes correspondant à sept autres helminthes. *Ann. Parasitol. hum. et Comp.*, 37, 221.
- BIGUET (J.), D'HAUSSY (R.), AUBRY (M.) et ROSE (F.). — 1964. Etudes des anticorps précipitants chez les sujets atteints d'onchocercose. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 57, 1098.
- BIGUET (J.), ROSE (F.), CAPRON (A.) et TRAN VAN KY (P.). — 1965. Contribution de l'analyse immuno-électrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux. Incidences pratiques sur leur standardisation, leur purification et le diagnostic des helminthiases par immuno-électrophorèse. *Rev. d'Immunologie*, 29, 5.
- CAPRON (A.), BIGUET (J.), TRAN VAN KY (P.) et ROSE (F.). — 1964. Possibilités nouvelles dans le diagnostic immunologique de la distomatose humaine à *Fasciola hepatica*. Mise en évidence d'anticorps sériques par immuno-électrophorèse. *Presse Médicale*, 72, 3103.
- CAPRON (A.), BIGUET (J.), ROSE (F.) et VERNES (A.). — 1965. Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. II. — Etude immuno-électrophorétique comparée des divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de *S. mansoni*. *Ann. Inst. Past.*, 109, 798.
- CAPRON (A.), DEBLOCK (S.) et BIGUET (J.). — 1965. Contribution à l'étude expérimentale de la schistosomose à *S. haematobium*. I. — Adaptation et maintien au laboratoire d'une souche de *Schistosoma haematobium*. *Bull. O.M.S.*, 32, 755.
- CAPRON (A.), DEBLOCK (S.) et BIGUET (J.). — 1965. Contribution à l'étude expérimentale de la schistosomose à *S. haematobium*. II. — Etude morphologique et biologique des stades larvaires de *S. haematobium* (souche algérienne) et comparaison de son évolution avec celle de trois autres souches d'origine africaine. *Bull. O.M.S.*, 32, 761.
- CAPRON (A.), YOKOGAWA (M.), BIGUET (J.) et LUFFAU (G.). — 1965. Diagnostic immunologi-

- que de la Paragonimose humaine. Mise en évidence d'anticorps sériques spécifiques par immuno-électrophorèse. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 58, 474.
- CAPRON (A.), ROSE (G.), LUFFAU (G.), BIGUET (J.) et ROSE (F.). — 1965. Apport de la distomatose expérimentale à la distomatose humaine à *Fasciola hepatica*. Aspects immunologiques. *Revue d'Immunologie*, 29, 25.
- CLAY (A.), ADENIS (L.), CAPRON (A.) et VERNES (A.). — 1965. Contribution à l'étude expérimentale de la schistomose à *S. haematobium*. III. — Etude histopathologique des lésions provoquées chez le hamster. *Bull. O.M.S.*, 32, 773.
- DAMIAN (R. T.). — 1962. A theory of immuno-selection for eclipsed antigens of parasites and its implications for the problem of antigenic polymorphism in man. *J. Parasitol.*, 48, 16.
- DODIN (A.), RATOVONDRAHETY, MOREAU (J.-P.), RICHAUD (J.). — 1965. Etude immunologique de bilharziens traités par le Ciba 32-644 Ba. *Ann. Inst. Past.*, 109, 128.
- FAROOQ (M.), SAMAAH (S. A.) and NIELSEN (J.). — 1964. Community survey to assess severity of disease caused by *S. haematobium* and *S. mansoni*. Preliminary report from Egypt — 49 Project. Document du Comité d'experts sur la bilharziose. *O.M.S.*, n° 3/WP/7, p. 3-27.
- GRABAR (P.) et WILLIAMS (C. A.). — 1953. Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. *Biochim. et Biophys. Acta.*, 10, 103.
- GRABAR (P.) et WILLIAMS (C. A.). — 1955. Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélanges de substances antigéniques. *Biochim. et Biophys. Acta.*, 17, 67.
- KAGAN (I. G.). — 1958. Contributions to the Immunology and Serology of Schistosomiasis. *Rice Institute Pamphlet*, 45, 151.
- KAGAN (I. G.). — 1961. Gel-diffusion techniques for the analysis of parasitic materials. *Helm. Soc. Wash.*, 28, 97.
- KAGAN (I. G.) and PELLEGRINO (J.). — 1961. A critical review of immunological methods for the diagnosis of bilharziasis. *Bull. O.M.S.*, 25, 611.
- KAGAN (I. G.) et NORMAN (L.). — 1963. Analyse of helminth antigens (*Echinococcus granulosus* and *Schistosoma mansoni*) by agar gel methods. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 113, 130.
- KENT (J. F.). — 1963. Current and potential value of immuno-diagnostic tests employing soluble antigens. *Am. J. Hyg. Monographic Ser.*, 22, 97.
- KENT (N. H.). — 1963. Seminar on immunity to parasitic helminths. V. Antigens. *Exptl. Parasitol.*, 13, 45.
- KENT (N. H.). — 1963. Comparative immuno-chemistry of larval and adult forms of *Schistosoma mansoni*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 113, 100.
- KRONMAN (B. S.). — 1965. Immuno-chemistry of *Schistosoma mansoni* Cercariae. *J. Immun.*, 95, 13.
- LEVINE (D. L.). — 1959. Studies on the immunology and serology of schistosomiasis. *Dissertation Abstracts*, 19, 2694.
- LINCICOME (D. R.). — 1962. Frontiers in research in parasitism. I. — Cellular and humoral reactions in experimental schistosomiasis. *Exptl. Parasitol.*, 12, 211.
- OLIVER-GONZALEZ (J.). — 1954. Anti-egg precipitins in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni*. *J. Inf. Dis.*, 95, 86.

- OLIVER-GONZALEZ (J.). — 1963. Antigenic differences in life-cycle stages. *Am. J. Hyg. Monographic Ser.*, 22, 57.
- OLIVIER-GONZALEZ (J.), 1963. Seminar on immunity to parasitic helminths. III. — Serological studies on stage specificity in *Trichinella spiralis*. *Exptl. Parasitol.*, 13, 13.
- OLIVER-GONZALEZ (J.), BAUMAN (P. M.) and BENENSON (A. S.). — 1955. a) Immunological aspects of infections with *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.*, 4, 443.
- OLIVER-GONZALEZ (J.), BAUMAN (P. M.) and BENENSON (A. S.). — 1955. b) Species specificity of the anti-egg precipitin in schistosome serums. *J. Inf. Dis.*, 96, 95.
- OUCHTERLONY (O.). — 1948. Antigen-antibody reactions in gels. *Ark. kemi, Sverige*, 26, 1.
- SILVA (L. C.). da et FERRI (R. G.). — 1965. Immuno-diffusion studies in human schistosomiasis mansoni. I. — Hepatointestinal and hepatosplenic forms. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 7, 1.
- SILVA (L. C.). da et FERRI (R. G.). — 1965. Immuno-diffusion studies in human schistosomiasis mansoni. II. — Localisation of antibodies by immuno-électrophoresis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 7, 7.
- SMITHERS (S. R.). — 1960. Gel-diffusion studies on *Schistosoma mansoni*, *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 54, 8.
- SMITHERS (S. R.). — 1962. Stimulation of acquired resistance to *Schistosoma mansoni* in monkeys: role of eggs and worms. *Exptl. Parasitol.*, 12, 263.
- SMITHERS (S. R.). — 1962. Acquired resistance to bilharziasis. *Bilharziasis Ciba foundation symposium. Churchill LTD* Londres, p. 239-258.
- SMITHERS (S. R.) and TERRY (R. J.). Some aspects of host-parasite relationships in experimental schistosomiasis. Communication au Premier Congrès International de Parasitologie. Rome, sept. 1964. *Parasitology*, sous presse.
- SOULSBY (E. J. L.). — 1963. The relative value of differences in antigens from various stages of helminth parasites as used in diagnostic tests. *Am. J. Hyg. Monographic Ser.*, 22, 47.
- TALIAFERRO (W. H.). — 1940. The mechanisms of acquired immunity to metazoan parasites. *Physiol. Rev.*, 20, 469.
- TALIAFERRO (W. H.). — 1943. Antigen-antibody reactions in immunity to metazoan parasites. *Proc. Inst. Med. Chicago*, 14, 358.
- TALIAFERRO (W. H.), HOFFMAN (W. A.) and COOK (D. H.). — 1928. A precipitin test in intestinal schistosomiasis. (*S. mansoni*). *J. Prev. Med.*, 2, 395.
- THORSON (R. E.). — 1963. The use of « metabolic » and somatic antigens in the diagnostic of helminthic infections. *Am. J. Hyg. Monographic Ser.*, 22, 60.
- VOGEL (H.) und MINNING (W.). — 1949. a) Hüllenbildung bei Bilharzia-Cercarien im serum Bilharzia-infizierter Tiere und Menschen. *Centralbl. f. Bakteriol.*, 153, 91.
- YOGORE (M. G.), LEWERT (R. M.), GARCIA (E. G.), MADRASO (E. D.) and RAMOS (E. R.). Analysis of *Schistosoma japonicum* antigens by micro-OUCHTERLONY technic. UNESCO, First Regional Symposium on Scientific knowledge of Tropical parasites. Singapore. 5-9 nov. 1962, p. 267.

Travail des Laboratoires de Parasitologie (Dir.: Prof. J. BIGUET) et d'Anatomie Pathologique (Dir.: Prof. A. CLAY) de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lille