Hymenolepis nana var. *fraterna*

(Cestoda : Hymenolepididae)

chez *Leucophaea maderae* (Dictyoptera : Blattidae) :

L'expression du conflit hôte-parasite
après inhibition expérimentale de la réaction hémocytaire

par B. PESSON * et N. LEGER **

* Faculté de Pharmacie de Paris XI, F 92290 Châtenay-Malabry.

** Faculté de Pharmacie de Reims, F 51096 Reims Cedex.

Résumé.

Le développement de cysticercoïdes non encapsulés d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna*, dans l'hémocèle de *Leucophaea maderae*, a été obtenu après dépression de la réaction hémocytaire par irradiation ou injection d'un antigène soluble d'*Hymenolepis nana*. L'ultra-structure du tégument des larves libres est observée et le rôle des microvillosités, comme moyen de défense, discuté.

Summary.

Hymenolepis nana var. *fraterna* (Cestoda: Hymenolepididae) in *Leucophaea maderae* (Dictyoptera: Blattidae): The host-parasite conflict after experimental inhibition of haemocytic reaction.

Development of non-encapsulated cysticercoïds of *Hymenolepis nana* var. *fraterna*, in the haemocoel of *Leucophaea maderae* occurred after the inhibition of the haemocytic reaction by irradiation or injection of a soluble antigen of *Hymenolepis nana*. Fine structure of the tegument of free larvae is observed and the mechanism of a possible defence of the parasite by the microvillar coat, discussed.

Reçu le 5 septembre 1977.

Des travaux récents (Pesson, Léger et Bouchet, 1977) ont mis en évidence la présence de cysticercoïdes non encapsulés, dans la cavité générale de la Blatte *Leucophaea maderae*, infestée massivement, par voie intra-cavitaire, avec des embryons d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* éclos *in vitro*. Les larves, libres de toute réaction cellulaire, présentent alors un tégument altéré.

Nous avons voulu, en déprimant artificiellement la réaction hémocytaire de la Blatte, obtenir le développement de cysticercoïdes libres dans l'hémocèle et tenter de préciser si les lésions de surface observées précédemment sont fortuites ou, au contraire, directement liées au débordement des réactions de défense de l'Insecte.

Nous présentons ici les deux techniques utilisées : l'une consiste à traiter, préalablement à l'infestation, les Blattes par l'injection d'un extrait antigénique total d'*Hymenolepis* adulte ; l'autre utilise l'effet cytotoxique des rayonnements ionisants. Nous exposons les résultats observés en particulier au niveau de l'étude ultrastructurale du tégument des cysticercoïdes.

Matériel d'étude et méthodes

I. — Matériel parasitaire.

— Des vers adultes, recueillis chez des Souris parasitées depuis quatre semaines par *Hymenolepis nana*, ont été utilisés pour préparer un antigène soluble total de ce Cestode. Les vers lavés sont soumis à des congélations et des décongélations successives, chaque décongélation étant accompagnée d'un broyage. L'extraction est effectuée par une solution de chlorure de sodium à 1 % ; l'antigène brut est centrifugé, dialysé et conservé par lyophilisation.

— On provoque, *in vitro*, l'éclosion d'œufs, obtenus par broyage de proglottis gravidés (Voge et Graiwer, 1964 ; Cavier et Léger, 1965). La suspension d'embryons ainsi réalisée constitue le matériel infestant qui sera injecté dans la cavité générale des Blattes.

II. — Préparation des Blattes.

Trois lots de *Leucophaea maderae* sont préparés avant l'infestation.

— Un premier lot de Blattes ne subit aucun traitement et sert de témoin.

— Un second lot de Blattes reçoit, 4 jours avant l'infestation, une injection intra-cavitaire de 1 mg d'antigène parasitaire, solubilisé dans 0,1 ml d'eau stérile.

— Le troisième lot reçoit, 5 heures avant l'infestation, une irradiation par le Co 60 : chaque Blatte est soumise à une irradiation totale de 10 000 Roentgen.

Les délais donnés ci-dessus ne sont pas arbitraires ; ils correspondent, selon notre expérience, aux conditions optimales de survie des Insectes et de développement des cysticercoïdes.

III. — Infestation des Blattes.

Chaque Insecte reçoit une injection abdominale intra-cavitaire de 0,1 ml de suspension d'embryons éclos *in vitro*. Cette suspension contient, en moyenne, 200 embryons libres par millilitre ; mais elle renferme aussi des coques vides, des embryons non viables et certains sur le point d'éclore, mobiles à l'intérieur de la membrane oncosphérique.

Après l'infestation et pendant toute la durée de l'expérience, les Blattes sont maintenues à 30 °C.

IV. — Dissection des Blattes.

Les Blattes traitées par l'injection d'antigène parasitaire sont disséquées au bout de 7 jours ; la mortalité est déjà importante à ce moment.

Les Blattes irradiées sont sacrifiées 7 jours et 12 jours après l'infestation.

V. — Techniques histologiques.

Le matériel parasitaire, trouvé dans l'hémocèle, est immédiatement fixé et préparé pour la microscopie électronique, selon une technique précédemment décrite (Pesson, Léger et Bouchet, 1977). Les observations sont effectuées au microscope optique sur les coupes semi-fines et au microscope électronique Philips EM 301.

Résultats

— Les Blattes non traitées, ayant subi l'infestation intra-cavitaire par les embryons éclos d'*Hymenolepis nana*, présentent dès le septième jour, à la dissection, de nombreuses capsules hémocytaires mélanisées dans leur hémocèle. Ces capsules renferment des œufs, des coques vides, des embryons dégénérés recouverts de pigment, mais aussi des cysticercoïdes vivants présentant un retard dans leur développement et des anomalies morphologiques déjà décrites (Cavier et Léger, 1965). Ces réactions cellulaires, retrouvées dans l'abdomen, à faible distance du point d'injection, sont surtout abondantes au niveau des tubes de Malpighi. Jamais, parmi ces témoins, nous n'avons retrouvé de cysticercoïdes libres dans l'hémocèle.

— Les Blattes traitées par l'antigène d'*Hymenolepis nana*, et infestées par voie intra-cavitaire, supportent mal l'injection d'embryons. La mortalité est importante et la survie maximale de courte durée (7 jours). Dans ce lot, comme dans le suivant, des individus n'ont pas été infestés et nous ont servi de témoins de survie. Aucun d'entre eux n'était mort à la fin de l'expérience.

Chez les Insectes venant de mourir, comme chez ceux que nous avons sacrifiés après six et sept jours, la dissection révèle, dans l'abdomen : la présence de réactions cellulaires autour d'œufs, d'embryons morts et de cysticercoïdes vivants. Ces réactions, en petit nombre, sont très riches en cellules, mais faiblement mélanisées. A côté de ces

PLANCHE I. — Cysticercoïde d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* (7 jours) chez *Leucophaea maderae* traitée par l'antigène d'*Hymenolepis*. — A : coupe semi-fine montrant une zone vacuolaire (va) très développée au centre du cercomère (c) ; parenchyme du cercomère (p) ; paroi cystique (pc) ; rostre (r) ; scolex (sx) ; tégument (t) ; ventouse (ve) ; B, C, D, E : ultrastructure du tégument ; microvillosités (m) courtes et rares ; petites vésicules (v) en surface du tégument. Les flèches montrent les ponts cytoplasmiques reliant le cytoplasme de surface (cs) au cytoplasme profond nucléé (cp) du syncytium tégumentaire.

PLANCHE II. — Cysticercoïdes d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* chez *Leucophaea maderae* irradiée (10 000 R.). — A : coupe semi-fine d'un cysticercoïde de 7 jours ; B : surface d'un cysticercoïde de 12 jours avec hémocytes (h) accolés ; C, D : cysticercoïde de 7 jours, ultrastructure du tégument ; E, F : cysticercoïde de 12 jours, ultrastructure du tégument.

capsules hémocytaires, nous avons trouvé, chez certaines Blattes, des cysticercoïdes vivants et libres dans l'hémocèle. Ces larves, à l'examen au microscope optique (Pl. I, A), ne présentent pas d'altération morphologique marquée au niveau du scolex ; le tégument, bien que de faible épaisseur, paraît intact et recouvre la totalité du parasite. Cependant au niveau du cercomère, la zone vacuolaire centrale (Voge et Heyneman, 1960) est très étendue et repousse en périphérie un parenchyme pauvre en cellules. Cette structure du cercomère est comparable à celle que l'on peut observer chez le parasite encapsulé dans la réaction hémocytaire.

L'observation ultrastructurale de la surface de la larve (Pl. I, B-C-D-E) montre un tégument mince et pauvre en microvillosités. Celles qui existent sont courtes, trapues et peu ramifiées. On observe, par endroits, près de ces microvillosités, de nombreuses petites vésicules peut-être d'origine sécrétoire. La partie profonde du tégument est riche en mitochondries.

— Les Blattes irradiées se montrent toutes réceptives à l'infestation intra-cavitaire par *Hymenolepis nana* (Pesson et Léger, 1977) et les embryons se développent dans la cavité générale comme chez les hôtes naturels (Pl. II, B). Néanmoins, la dépression de la réaction hémocytaire n'est pas totale, et, douze jours après l'infestation, on observe encore à la surface de certains cysticercoïdes quelques hémocytes accolés, sans formation de capsules (Pl. II, B). Nous avons observé un phénomène semblable lors des infestations intra-cavitaires de *Tenebrio molitor*, chez qui la reconnaissance du parasite ne paraît pas complète lorsque la barrière intestinale n'a pas été franchie par la larve (Pesson, Léger et Bouchet, 1977). L'observation ultrastructurale du tégument montre, chez les cysticercoïdes de 7 jours (Pl. II, C-D) et de 12 jours (Pl. II, E-F), une surface très riche en microvillosités et comparable à celle que nous avons observée chez *Tenebrio molitor*.

Discussion

Depuis les travaux d'Ubelaker, Cooper et Allison (1970, a) sur l'ultrastructure des cysticercoïdes d'*Hymenolepis diminuta*, le rôle joué par le tégument dans la défense du parasite contre les réactions de l'Insecte-hôte est discuté. C'est au niveau des microvillosités tégumentaires que se situe le contact du parasite et de son hôte. Pour certains auteurs, des vésicules de sécrétion, produites par les microvillosités, agiraient directement sur la lyse des hémocytes (Ubelaker, Cooper et Allison, 1970, b ; Collin, 1970). D'autres auteurs (Lackie, 1976) pensent que ces vésicules ne sont que des produits d'excrétion du ver qui peuvent accidentellement produire la lyse d'hémocytes. Lackie, tout en soulignant que le problème de l'information des hémocytes et de leur pouvoir de reconnaissance des corps étrangers reste posé, pense cependant que le camouflage du cysticercoïde par des produits de lyse des hémocytes ou par des substances contenues dans l'hémolymph, est improbable. Il nous semble important de préciser que, dans ce dernier travail, l'auteur n'aborde pas le passage intestinal des larves qui est

peut-être déterminant aussi bien dans l'information des hémocytes (intervention de produits de sécrétion du ver), que dans l'adaptation de la surface du parasite, au milieu qu'il va rencontrer dans l'hémocèle (intervention d'une réaction épithéliale « informant » le parasite).

Les observations ultrastructurales que nous avons pu faire sur les cysticercoïdes d'*Hymenolepis nana* chez un hôte naturel, *Tenebrio molitor*, et chez un hôte non réceptif, *Leucophaea maderae*, font apparaître une très grande plasticité du tégument. Celui-ci semble, en effet, s'adapter aux conditions rencontrées chez chacun de ces hôtes.

Dans trois cas, nous avons observé à la surface du parasite un tégument régulier, à cytoplasme non altéré, mais pauvre en microvillosités. Il s'agit : des infestations anciennes par voie buccale de *Tenebrio molitor*, des infestations intra-cavitaires de *Leucophaea maderae* traitées par l'antigène d'*Hymenolepis* ou non traitées (les larves étant alors incluses dans les capsules hémocytaires). Il y a, dans ces trois situations, ou succès des réactions cellulaires de l'hôte, se traduisant par l'isolement complet du parasite, ou, au contraire, échappement total du parasite à la réaction hémocytaire. Ce phénomène correspond soit à une adaptation naturelle à l'hôte chez *Tenebrio molitor*, soit à un débordement complet et spécifique de la réaction chez la Blatte traitée.

Un cas particulier est celui des formes libres que nous avons précédemment trouvées lors des infestations intra-cavitaires massives de *Leucophaea*. Le tégument de ces larves était, par endroits, très altéré et abrasé. Cette particularité que nous n'avons pas retrouvée sur les autres formes libres se développant chez *Leucophaea* trouve, peut-être, son origine dans le développement des cysticercoïdes dans un site particulier : à la surface d'un organe ou d'une réaction hémocytaire. Le tégument a pu alors être altéré si le parasite s'est décroché de son support.

A l'opposé, le cysticercoïde possède un tégument riche en microvillosités dans les cas suivants : infestations intra-cavitaires et infestations récentes par voie buccale de *Tenebrio molitor* ; infestation intra-cavitaire des Blattes soumises à une irradiation de 10 000 R. Ces trois circonstances correspondent à une réaction hémocytaire faible : soit passagère (infestation buccale de *Tenebrio molitor*), soit permanente, mais n'aboutissant pas à la formation de capsule (infestation intra-cavitaire de *Tenebrio molitor* et de *Leucophaea* irradiée). Dans ce dernier cas, il y a conflit continu entre les cellules de l'hôte et le parasite qui réagit « a maxima » par l'extrusion d'abondantes microvillosités.

Les méthodes expérimentales, qui nous ont permis d'obtenir le développement de cysticercoïdes libres chez *Leucophaea maderae*, provoquent toutes deux une dépression de la réaction hémocytaire. Alors que l'irradiation déprime de façon quantitative les hémocytes, il semble que l'injection préalable à l'infestation de l'antigène parasitaire réduit la réaction hémocytaire de façon plus spécifique ; celle-ci apparaissant faible lors de l'injection des embryons. Enfin, signalons que chaque fois que nous avons pu, chez *Leucophaea maderae*, déborder au niveau de l'hémocèle la réaction cellulaire, la Blatte supportait mal le parasitisme et les Insectes infestés par des formes libres ne survivent pas comme les hôtes naturels. Nous trouvons ici un argument supplémentaire, pour

penser que la réaction hémocytaire ne constitue pas à elle seule la barrière naturelle de résistance de *Leucophaea maderae* à *Hymenolepis nana* var. *fraterna*. D'autres facteurs entrent en jeu au niveau de la paroi intestinale (Léger et Cavier, 1970 ; Pesson et Léger, 1975) et peut-être au niveau de substances diffusibles pour inhiber le développement du Cestode.

Bibliographie

- CAVIER (R.) et LÉGER (N.), 1965. — A propos de l'évolution d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* chez des hôtes intermédiaires inhabituels. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 40, 651-658.
- COLLIN (W. K.), 1970. — Electron microscopy of postembryonic stages of the tapeworm *Hymenolepis citelli*. *J. Parasitol.*, 56, 1159-1170.
- LACKIE (A. M.), 1976. — Evasion of the haemocytic defence reaction of certain insects by larvae of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Parasitology*, 73, 97-107.
- LÉGER (N.) et CAVIER (R.), 1970. — A propos de l'évolution d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* chez des hôtes intermédiaires inhabituels. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 45, 195-201.
- PESSON (B.) et LÉGER (N.), 1975. — *Hymenolepis nana* var. *fraterna* (Cestoda : Hymenolepididae) chez *Leucophaea maderae* (Dictyoptera : Blattidae) : la traversée de la paroi intestinale. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 50, 425-437.
- PESSON (B.) et LÉGER (N.), 1977. — La destinée d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* (Cestode) chez un hôte inhabituel : *Leucophaea maderae* (Dictyoptère). Colloque sur l'immunité chez les Insectes (Angers, 1975). *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 52, 78-80.
- PESSON (B.), LÉGER (N.) et BOUCHET (P.), 1977. — Le développement du cysticercoïde d'*Hymenolepis nana* var. *fraterna* (Cestoda : Hymenolepididae) dans la cavité générale de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae) et de *Leucophaea maderae* (Dictyoptera : Blattidae). (Publ. en cours).
- UBELAKER (J. E.), COOPER (N. B.) et ALLISON (V. F.), 1970 a. — The fine structure of the cysticercoïd of *Hymenolepis diminuta* : I. The outer wall of the capsule. *Z. Parasitenk.*, 34, 258-270.
- UBELAKER (J. E.), COOPER (N. B.) et ALLISON (V. F.), 1970 b. — Possible defensive mechanism of *Hymenolepis diminuta* cysticercoïds to hemocytes of the beetle. *Tribolium confusum*. *J. Inver. Pathol.*, 16, 310-312.
- VOGE (M.) et GRAIWER (M.), 1964. — Development of oncospheres of *Hymenolepis diminuta* hatched *in vivo* and *in vitro* in the larvae of *Tenebrio molitor*. *J. Parasitol.*, 50, 267-270.
- VOGE (M.) et HEYNEMAN (D.), 1960. — Studies on cysticercoïd histology. II. Observations on the fully developed cysticercoïd of *Hymenolepis nana* (Cestoda : Cyclophyllidae). *Proc. Helm. Soc. Washington*, 27, 185-188.