

**ÉTUDE PAR LA RÉACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE
DES ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LES ANTIGÈNES
DE L'ÉPITHÉLIUM INTESTINAL DE *SCHISTOSOMA MANSONI*.
I — Chez la souris expérimentalement infestée**

J. TRIBOULEY, J. TRIBOULEY-DURET, M. APPRIOU et M. F. SAUNERON*

RÉSUMÉ. Des anticorps dirigés contre les antigènes de l'épithélium intestinal de *Schistosoma mansoni* sont mis en évidence, chez la Souris expérimentalement infestée, à l'aide d'une réaction d'immunofluorescence indirecte utilisant comme antigène des coupes à la paraffine de schistosomes adultes fixés au préalable par le fixateur de Rossman. Les anticorps appartenant aux différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines sont mis en évidence à l'aide de conjugués monospécifiques. Les anticorps de classe IgM sont prédominants : apparus dès le 12^e jour de l'infestation, leur taux maximum est atteint au 2^e mois et ils sont toujours présents au 12^e mois bien qu'à des taux plus faibles. Les anticorps appartenant aux différentes sous-classes d'IgG peuvent être également détectés mais ils apparaissent plus tardivement et ils tendent à disparaître à la phase chronique de l'infestation, époque à laquelle ils sont présents de manière inconstante. On ne décèle pas d'anticorps de classe IgA ni de classe IgE. Après traitement par le Praziquantel une élévation transitoire mais importante du taux des anticorps est observée. Aucune réaction positive n'est obtenue avec les sérums prélevés chez des souris infestées par *Fasciola hepatica* ou *Trichinella spiralis*.

**Study of fluorescent antibodies directed against the gut epithelium of
Schistosoma mansoni. I — In experimental schistosomiasis in mice**

SUMMARY. The present study was carried out to test with the immunofluorescent antibody test the presence of antibodies directed against the gut epithelium of adult schistosomes in experimental schistosomiasis in mice. Paraffin sections of adult female worms fixed in Rossman's fixative were used and antibodies of the different classes and subclasses could be studied with monospecific conjugates. IgM were the predominant antibodies: they appeared at day 12 after infection, reached a peak value by the 2nd month and remained present at lower levels by the 12th month. The different IgG subclasses were also present but they appeared later and tend to disappear in the chronically infected animal. IgA and IgE antibodies could not be detected. After treatment by Praziquantel, transitory but important elevation of antibodies was observed. No false positive reaction was observed with sera from mice infected by *Fasciola hepatica* or *Trichinella spiralis*.

* Laboratoire d'Immunologie et de Biologie parasitaire, Université Bordeaux II, 146 rue Léo Saignat, F 33076 Bordeaux Cedex.

Accepté le 29 juillet 1982.

Parmi les nombreuses techniques applicables au sérodiagnostic des bilharzioses, la réaction d'immunofluorescence est une des plus utilisées. Les suspensions de cercaires d'abord employées comme antigène (1), furent par la suite remplacées par des coupes de schistosomes adultes réalisées au cryostat (6, 7). C'est à l'heure actuelle le protocole le plus répandu et la plupart des auteurs qui l'ont mis en œuvre ont souligné la reproductibilité et la sensibilité des résultats obtenus. Par contre la spécificité de la réaction a été parfois discutée car des réactions croisées ont été signalées avec d'autres parasites comme *Trichinella spiralis* et *Fasciola hepatica* (15).

Ces réactions croisées sont dues à la grande complexité des structures antigéniques présentes sur les coupes de vers adultes réalisées au cryostat. Cependant la description plus récente de différents types de fluorescence localisés en des zones différentes du ver et correspondant vraisemblablement à diverses structures antigéniques ouvre une possibilité d'améliorer la spécificité de la réaction (15, 17, 20). On se propose dans ce travail d'étudier chez la souris expérimentalement infestée les anticorps élaborés contre les antigènes de l'épithélium intestinal du parasite en utilisant des coupes de vers adultes préalablement fixés et dont les autres motifs antigéniques ont été préalablement détruits par la fixation, suivant une méthode récemment proposée par Nash (14).

Matériel et méthodes

Réaction

La réaction pratiquée est une réaction d'immunofluorescence indirecte utilisant comme antigène des vers femelles de *Schistosoma mansoni*, préalablement fixés pendant 6 heures dans le fixateur de Rossman¹. Les vers fixés sont ensuite dépicriqués par plusieurs bains d'éthanol à 70 et traités suivant les méthodes histologiques classiques ; après inclusion dans la paraffine, des coupes de 5 microns sont effectuées, déposées sur des lames spécialement conçues pour l'immunofluorescence², puis elles sont collées et déparaffinées.

Ces coupes qui peuvent être conservées à la température du laboratoire sont alors utilisables pour la réaction. Elles sont recouvertes d'1 goutte des différentes dilutions des sérums à tester. Après 1/2 h de contact à la température du laboratoire en chambre humide, les lames sont lavées 2 fois 5 minutes en tampon PBS pH 7,2³ et le conjugué fluorescent dilué en tampon PBS additionné de 1/10 000 de Bleu d'Evans est déposé à raison d'1 goutte sur chaque coupe. Après 1/2 h de contact à la température du laboratoire et 2 lavages en tampon PBS, les préparations montées

1. Fixateur de Rossman. Obtenu par mélange de 9 volumes d'éthanol absolu saturé en acide picrique et de 1 volume de formaldéhyde à 37 %.

2. Lames pour immunofluorescence. Lames recouvertes d'un revêtement hydrophobe en téflon permettant de délimiter des puits au niveau desquels sont déposées des coupes (Lames Cooke-Dynatech).

3. Solution tampon PBS pH 7,2 : ClNa 0,15M 100 ml, PO₄KH, 0,15M 24 ml, PO₄Na, H 0,15M 76 ml.

en glycérine tamponnée sont observées au microscope à fluorescence⁴. Afin de préciser la nature immunochimique des anticorps décelés, les sérums étudiés sont testés parallèlement par différents conjugués fluorescents⁵ anti-immunoglobulines totales, anti IgG₁, anti IgG₂, anti IgG₃, anti IgA, anti IgM, anti IgE.

Sérums

Les sérums sont prélevés chez des souris infestées par différents parasites.

*Schistosoma mansoni*⁶. Plusieurs lots d'animaux sont étudiés :

— Les 50 souris d'un premier lot sont infestées par injection sous-cutanée de 100 cercaires par souris. Les prélèvements sanguins sont effectués par ponction du sinus rétro-orbitaire, avant l'infestation et 12 jours, 2 mois, 3 mois 1/2, 6 mois et 9 mois après l'infestation, les sérums recueillis à chaque date de prélèvement étant réunis en pools.

— De plus afin de préciser le taux des anticorps au bout d'un an d'infestation, des prélèvements sanguins individuels sont effectués chez 10 souris infestées 1 an auparavant par 25 cercaires. Le jour de la saignée, le nombre de parasites est déterminé par perfusion de chaque animal suivant la technique de Radke.

— Par ailleurs, 8 souris infestées 9 mois auparavant par 50 cercaires sont traitées par le Praziquantel, administré *per os* en une seule fois à la dose de 60 mg/Kg. Les sérums sont recueillis individuellement pour chaque souris, avant traitement et 1, 3, 5 et 9 semaines après traitement.

Fasciola hepatica

— Un premier lot de 15 souris est infesté à raison de 5 métacercaires⁷ de *Fasciola hepatica* par souris. Les sérums sont recueillis 1 mois après l'infestation et ils sont testés par la méthode d'électrosynérèse à l'aide d'un antigène distomien métabolique : ils présentent de 1 à 5 traits de précipitation.

— Un deuxième lot de 8 souris est infesté par 5 métacercaires de *F. hepatica* et il est traité à la 5^e semaine de l'infestation par du Bilevon administré *per os*, à 2 reprises à 4 jours d'intervalle, à la dose de 10 mg/Kg. Les sérums sont recueillis à la 4^e semaine d'infestation, avant traitement : ils montrent de 1 à 4 traits de précipitation vis-à-vis de l'antigène distomien. A la 6^e semaine de l'infestation, après traitement, les sérums testés dans les mêmes conditions montrent de 2 à 10 traits de précipitation.

4. Microscope Leitz Dialux 20 E.D. équipé d'un illuminateur en lumière réfléchie avec une lampe à vapeur de mercure HBO 50 et un filtre d'excitation interférentiel de bande passante 540-490 nm.

5. Conjugués fluorescents Nordic : immunoglobulines de chèvre anti-immunoglobulines de souris marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine, dilués au 1/40 au moment de l'emploi.

6. Souche L. E. Belo Horizonte entretenue au laboratoire sur le Hamster, le mollusque *Biomphalaria glabrata* servant d'hôte intermédiaire.

7. Les métacercaires proviennent de cercaires obtenues à partir de mollusques *Limnea tomentososa* infestées dans notre laboratoire.

Trichinella spiralis

Dix-huit sérums prélevés chez des souris infestées à raison de 500 larves de *Trichinella spiralis* par souris sont testés. Six d'entre eux, prélevés à la 4^e semaine d'infestation, présentent 1 à 3 traits de précipitation en électrosynérèse contre un extrait antigénique de *T. spiralis*. Douze autres, prélevés à la 12^e semaine d'infestation, présentent 1 à 2 traits de précipitation dans les mêmes conditions.

Résultats

Localisation de la fluorescence à l'épithélium intestinal du parasite (fig. 1)

Dans les conditions adoptées pour la réaction, la fluorescence observée avec des sérums d'animaux bilharziens se localise au niveau de l'épithélium intestinal du parasite. Néanmoins il faut signaler qu'aux faibles dilutions une fluorescence tâchetée du parenchyme du Ver peut être également observée ; ce phénomène est surtout marqué avec les conjugués anti-immunoglobulines totales et anti-IgG et il se manifeste principalement lorsque des coupes de Ver mâle sont utilisées comme antigène. C'est pourquoi toutes nos réactions sont effectuées sur des vers femelles : dans ces conditions la fluorescence tâchetée du parenchyme, observée uniquement avec les conjugués anti-immunoglobulines totales et anti-IgG, est faible et ne dépasse pas la dilution du 1/8. Elle n'est pas observée avec le conjugué anti-IgM, même à la dilution du 1/2. De plus, l'intensité de la fluorescence de l'épithélium intestinal dépend du niveau de la coupe : elle est nettement plus marquée dans le 1/3 antérieur du tube digestif à un niveau où celui-ci est constitué par 2 branches avant leur fusion en un caecum unique. C'est pourquoi nous utilisons de préférence comme antigène des coupes effectuées au niveau du 1/3 antérieur du Ver femelle, ce qui a de plus l'avantage d'éviter la présence sur la coupe des glandes vitellogènes dont l'autofluorescence est bien connue.

Évolution des anticorps en fonction du temps chez la souris infestée par *S. mansoni*

Les résultats rapportés sur le *tableau I* montrent que la réaction utilisée permet de déceler des anticorps dès le 12^e jour de l'infestation par 100 cercaires. Les anticorps atteignent leur maximum aux alentours du 2^e mois et sont toujours présents au 12^e mois de l'infestation bien qu'à des taux plus faibles. L'étude des différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines révèle l'apparition précoce des anticorps de type IgM qui sont les premiers à apparaître mais se maintiennent à des taux élevés jusqu'à la phase tardive de l'infestation. L'apparition des différentes sous-classes d'IgG est plus tardive, les taux les plus élevés étant observés pour la sous-classe des IgG₁, tandis que les IgG₃ sont présents à des taux moindres (surtout à la phase tardive de l'infestation), phénomène encore plus accentué pour les IgG₂ dont les taux sont encore plus faibles. On n'a pu mettre en évidence d'anticorps de type IgA, ni de type IgE.

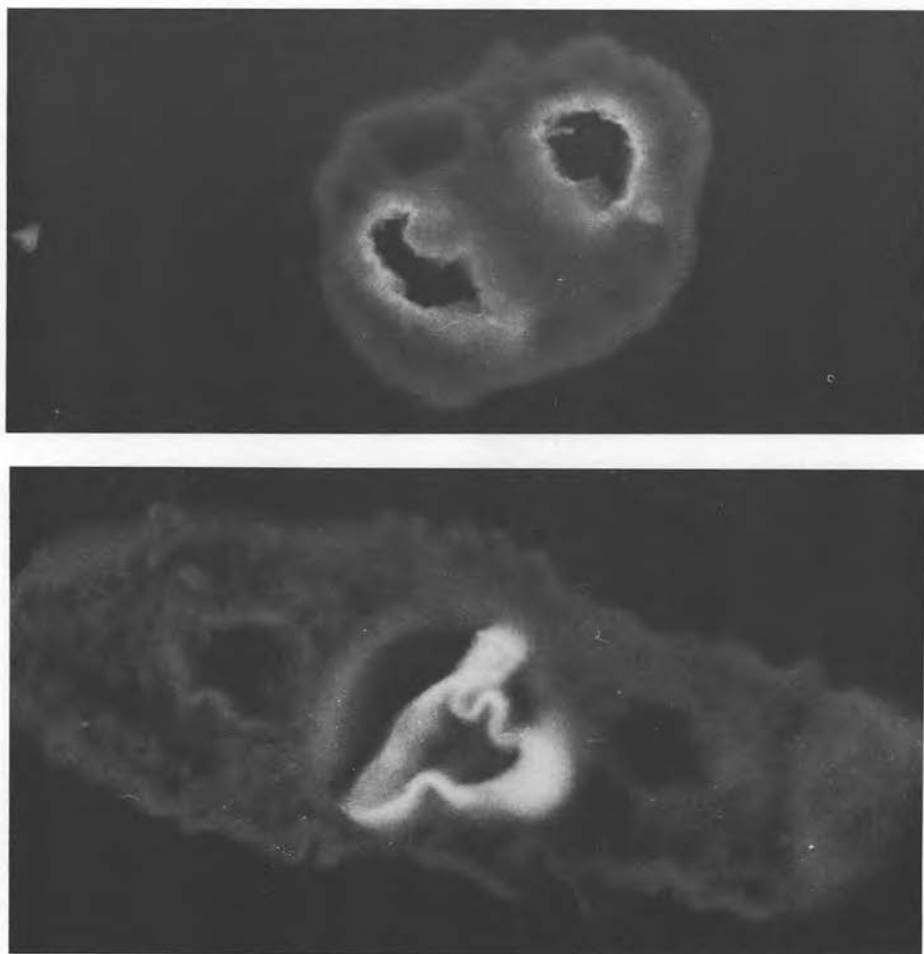


FIG. 1. — Réaction d'immunofluorescence indirecte réalisée à l'aide de coupes à la paraffine de vers femelles de *S. mansoni* préalablement fixés par le fixateur de Rossman.

- a) Réaction positive : la fluorescence est limitée à l'épithélium intestinal (conjugué utilisé : conjugué anti-IgM).
- b) Réaction négative : absence de fluorescence de l'épithélium intestinal. On remarque l'autofluorescence de la coque de l'œuf (conjugué utilisé : conjugué anti-IgM).

Les taux en anticorps observés après 1 an d'infestation chez 10 souris infestées par 25 cercaires sont rapportés sur le *tableau II* où sont mentionnés les résultats parasitologiques et sérologiques individuels. Toutes les souris ont des anticorps de type IgM ; par contre, les anticorps appartenant aux différentes sous-classes d'IgG sont inconstamment présents et à des taux en général faibles.

TABLEAU I. — Évolution des anticorps en fonction du temps chez la Souris infestée par 100 cercaires de *Schistosoma mansoni* (réactions effectuées sur les sérums d'un lot de 50 souris, réunis en pools à chaque date de prélèvement).

Temps d'infestation	Réaction d'immunofluorescence						
	Ig totales	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgM	IgA	IgE
0	—	—	—	—	—	—	—
12 jours	1/4	—	—	—	1/16	—	—
2 mois	1/2048	1/1024	1/16	1/512	1/512	—	—
3 mois 1/2	1/1024	1/512	1/4	1/32	1/512	—	—
6 mois	1/512	1/64	1/4	1/8	1/128	—	—
9 mois	1/64	1/4	—	—	1/32	—	—

TABLEAU II. — Titres en anticorps observés après 1 an d'infestation chez 10 souris infestées par 25 cercaires.

N° des souris	Nbre de parasites	Anticorps décelés par immunofluorescence						
		Ig totales	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgM	IgA	IgE
1	2	1/32	—	—	—	1/64	—	—
2	3	1/64	—	—	—	1/32	—	—
3	7	1/512	—	—	1/16	1/128	—	—
4	2	1/1024	—	—	1/128	1/128	—	—
5	2	1/32	1/4	—	1/32	1/32	—	—
6	1	1/64	—	—	—	1/64	—	—
7	1	1/128	—	—	—	1/32	—	—
8	3	1/512	1/4	1/4	1/4	1/128	—	—
9	1	1/1024	1/4	1/4	1/4	1/128	—	—
10	1	1/512	1/64	—	1/4	1/32	—	—

Évolution des anticorps après traitement (Tableau III).

L'administration de Praziquantel à des souris infestées 9 mois auparavant par 50 cercaires de *Schistosoma mansoni* se traduit dans un premier temps par une remontée générale du taux des anticorps, à l'exception des anticorps de type IgA et de type IgE qui sont toujours absents. Par la suite, on assiste à une décroissance du titre en anticorps ; cependant, la réaction pratiquée à l'aide d'un conjugué anti-immunoglobulines totales à la 9^e semaine suivant le traitement est toujours positive. A la même époque les anticorps de type IgM sont toujours présents tandis que les anticorps appartenant aux différentes sous-classes d'IgG ont tendance à disparaître et c'est ainsi que des réactions négatives sont observées avec les conjugués anti-IgG₁ et anti-IgG₂.

TABLEAU III. — Étude de l'évolution des anticorps chez 8 souris infestées par 50 cercaires de *Schistosoma mansoni* et traitées au 9^e mois de l'infestation par le praziquantel.

Temps	N ^o des souris	Réaction d'immunofluorescence						
		Ig totales	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgM	IgA	IgE
Avant traitement	1	1/64	1/4	1/4	1/16	1/32	—	—
	2	1/32	1/8	—	1/8	1/64	—	—
	3	1/64	1/4	—	1/32	1/128	—	—
	4	1/64	1/4	1/4	1/4	1/128	—	—
	5	1/32	1/4	—	1/4	1/64	—	—
	6	1/16	—	—	—	1/8	—	—
	7	1/32	1/8	—	—	1/32	—	—
	8	1/16	1/4	—	1/4	1/8	—	—
8 jours après traitement	1	1/1024	1/64	1/32	1/16	1/128	—	—
	2	1/512	1/16	1/8	1/8	1/256	—	—
	3	1/64	1/16	—	1/8	1/64	—	—
	4	1/512	1/32	1/4	1/8	1/1024	—	—
	5	1/64	1/16	—	1/4	1/32	—	—
	6	1/64	1/4	1/4	—	1/32	—	—
	7	1/16	1/4	—	—	1/16	—	—
	8	1/4	—	—	—	1/4	—	—
3 semaines après traitement	1	1/8192	1/256	1/8	1/64	1/512	—	—
	2	1/4096	1/128	—	1/4	1/256	—	—
	3	1/128	1/128	—	1/32	1/64	—	—
	4	1/32	1/8	1/4	1/16	1/16	—	—
	5	1/2048	1/64	—	—	1/152	—	—
	6	1/1024	1/16	—	1/16	1/128	—	—
	7	1/4	—	—	—	1/4	—	—
5 semaines après traitement	1	1/1024	1/8	1/4	1/4	1/256	—	—
	2	1/512	1/4	—	1/4	1/64	—	—
	3	1/128	—	—	1/8	1/16	—	—
	4	1/256	—	—	1/8	1/32	—	—
	5	1/512	—	—	—	1/4	—	—
	6	1/128	—	—	1/4	1/16	—	—
	7	1/4	—	—	—	1/4	—	—
9 semaines après traitement	1	1/1024	—	—	1/4	1/128	—	—
	2	1/128	—	—	1/4	1/16	—	—
	3	1/32	—	—	1/4	1/4	—	—
	4	1/256	—	—	1/4	1/32	—	—
	5	1/256	—	—	—	1/4	—	—
	6	1/128	—	—	1/4	1/16	—	—

Étude de la spécificité de la réaction à l'aide de sérums de souris infestées par *Fasciola hepatica* et *Trichinella spiralis*

Chez la souris infestée par *Fasciola hepatica* la réaction pratiquée sur des sérums riches en anticorps distomiens et prélevés avant et après traitement par le Bilevon, est constamment négative à la dilution 1/4. Il en est de même pour des sérums prélevés chez des souris infestées 1 mois et 3 mois auparavant par *Trichinella spiralis*.

Discussion

I — Intérêt de la modalité technique proposée

La réaction d'immunofluorescence effectuée sur coupes à la congélation de schistosomes adultes est une des méthodes les plus utilisées pour le sérodiagnostic de la bilharziose. Avec les sérums positifs cette méthode permet d'observer une fluorescence homogène bien que récemment une observation plus précise des images de fluorescence ait permis de décrire à côté de la fluorescence « diffuse » habituelle étendue à toute la surface de la coupe, une fluorescence « focale » localisée à l'épithélium intestinal et aux zones adjacentes (15, 17, 20). La description de ces images confère à la réaction d'immunofluorescence un certain caractère analytique car elle permet la mise en évidence d'anticorps se fixant sur des structures particulières du parasite ; l'étude de la distribution des différents aspects de fluorescence observés chez l'Homme en fonction de l'âge dans les régions d'endémie permet de constater que les fluorescences « focales » se rencontrent surtout au cours des infestations récentes tandis que la fluorescence « diffuse » augmente progressivement avec l'âge. Néanmoins, « fluorescence focale » et « fluorescence diffuse » coexistent souvent et dans ce dernier cas la « fluorescence focale » peut être difficile à déceler. Cet écueil peut être facilement évité si la réaction est effectuée sur des coupes d'un parasite préalablement fixé. La réaction d'immunofluorescence est en effet habituellement effectuée sur des coupes de schistosomes réalisées au cryostat, les vers ayant été préalablement congelés, car la mise en évidence d'anticorps ou d'antigènes ne peut être réalisée que par des méthodes n'altérant pas leur réactivité immunologique et il est généralement admis que les techniques de l'histologie conventionnelle altèrent fortement cette réactivité. Néanmoins, on a observé que certaines structures, comme les antigènes polysaccharidiques, se montrent particulièrement résistantes à l'action dénaturante des fixateurs, ce qui a permis à Coons (9) de mettre en évidence dans les tissus les antigènes polysaccharidiques du pneumocoque en utilisant un fixateur à base d'acide picrique, de formol et d'alcool (fixateur de Rossman). Ce procédé appliqué aux schistosomes adultes, permet justement d'observer avec des sérums positifs une fluorescence uniquement localisée au niveau de l'épithélium intestinal, la réactivité immunologique des autres structures du parasite ayant été abolie par le fixateur. De plus, la fixation préalable des vers permet d'effectuer les coupes suivant les techniques de l'histologie classique sans qu'il soit nécessaire d'utiliser un cryostat, les préparations obtenues ont une qualité au moins égale à celle des coupes à la congélation, enfin elles ont l'avantage de pouvoir être conservées à la température du laboratoire.

La réalisation de la réaction d'immunofluorescence sur des coupes de schistosomes préalablement fixés au fixateur de Rossman présente donc un double intérêt : simplicité d'une technique accessible à tous les laboratoires, mise en évidence d'anticorps dirigés contre une structure bien définie du parasite, ce qui peut faire espérer une meilleure spécificité.

II — Les différentes classes d'anticorps mises en évidence

L'un des avantages de la réaction d'immunofluorescence est de pouvoir distinguer les différentes classes d'anticorps par la mise en œuvre de conjugués fluorescents monospécifiques. Au cours de la schistosomiase, tant humaine qu'expérimentale, des anticorps appartenant aux différentes classes d'immunoglobulines ont pu être mis en évidence (19, 18, 4). L'utilisation de coupes de ver adulte préalablement fixé par le fixateur de Rossman a l'avantage de permettre l'étude des différentes classes d'anticorps dirigés contre une structure déterminée, l'épithélium intestinal du parasite. Confirmant les observations réalisées chez l'Homme, par Niel (15), puis par Nash (14) nous avons constaté que chez la souris les anticorps prédominants sont de classe IgM : ils apparaissent de façon très précoce, dès la 2^e semaine et se maintiennent à des taux élevés jusqu'à une phase tardive de l'infestation. Les anticorps de classe IgA et IgE ne sont pas décelables contrairement aux observations rapportées par différents auteurs utilisant des parasites non fixés (19, 18, 4) ; il semblerait donc que les structures de l'épithélium intestinal du parasite ne suscitent pas de réponse immunitaire de ce type. Par contre, des anticorps appartenant aux différentes sous-classes d'IgG peuvent être mis en évidence. On doit remarquer qu'il s'agit principalement d'IgG₁, les anticorps de type IgG₂ et IgG₃ étant présents en plus faible quantité. L'hypergammaglobulinémie à IgG₁ est généralement considérée comme une conséquence assez remarquable de diverses infestations parasitaires chroniques chez la souris (12). L'IgG₁ est un anticorps homocytotrope responsable de phénomènes anaphylactiques mais elle ne fixe pas le complément. Les anticorps de type IgG₂ et IgG₃ possèdent par contre la propriété d'activer le complément. Ces observations pourraient semble-t-il être prises en compte pour l'interprétation de certaines manifestations immunopathologiques ; en effet, il a été montré que les structures antigéniques de l'épithélium intestinal du parasite sont partiellement relarguées dans le torrent circulatoire. A ce niveau elles se combinent aux anticorps pour donner naissance à des immunocomplexes dont les propriétés effectrices sont largement dépendantes de la nature des classes d'immunoglobulines qui les constituent.

III — Les structures antigéniques mises en jeu dans la réaction

Différents travaux ont montré l'intervention d'antigènes polysaccharidiques présents au niveau de l'épithélium intestinal du schistosome adulte (11, 13). Dans l'organisme, ces antigènes sont déversés dans le torrent circulatoire avec le contenu intestinal du parasite. En effet, à la suite des premières études d'Okabé (16) qui mit en évidence la présence d'antigène bilharzien dans l'urine de sujets infestés par *S. japonicum*, différents auteurs ont signalé la présence d'antigènes circulants soit dans le plasma, soit dans l'urine de sujets bilharziens ou d'animaux expérimentalement infestés (8, 5). C'est ainsi qu'à côté d'un antigène polysaccharidique de mobilité anodique et de faible poids moléculaire, probablement identique à l'antigène M retrouvé dans l'urine et le lait, on a particulièrement étudié un antigène polysaccharidique de mobilité cathodique et d'un poids moléculaire élevé supérieur à 100 000 dal-

tons. Cet antigène présent dans le sérum de l'organisme infesté, peut être également isolé des extraits salins et des produits de sécrétion et d'excrétion des vers adultes de *S. mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*. Il suscite l'apparition d'anticorps chez l'organisme infesté mais il est dépourvu de pouvoir immunogène lorsqu'il est injecté au Lapin à l'état pur. Néanmoins, un antisérum monospécifique peut être préparé par injection de l'antigène couplé à de l'albumine bovine méthylée, ce qui a permis de le localiser au niveau des cellules épithéliales de l'épithélium intestinal par la technique d'immunofluorescence (11, 13). Des études récentes de la composition exacte de cette structure montrent qu'il s'agit probablement d'un protéoglycane (14).

Cependant, il n'est pas exclu que d'autres structures également présentes au niveau de l'épithélium intestinal puissent intervenir dans la réaction. Il a été en effet démontré par ailleurs que l'isoenzyme pi 7,1 de la malicodeshydrogenase de *S. mansoni*, antigène 4 spécifique du genre, peut être également localisé de la même façon au niveau de l'assise cellulaire du caecum intestinal (2).

IV — Sensibilité et spécificité de la réaction

La sensibilité de la réaction apparaît tout à fait satisfaisante puisque les anticorps, décelables dès le 12^e jour de l'infestation, peuvent atteindre au 2^e mois des taux dépassant le 1/2000 ; des titres du 1/8000 sont même transitoirement observés à la suite de l'importante stimulation antigénique entraînée par la lyse parasitaire consécutive à l'administration de Praziquantel. Les valeurs ainsi observées sont comparables ou même parfois supérieures à celles obtenues par la technique d'immunofluorescence effectuée sur coupes à la congélation (10). Il faut néanmoins souligner que l'intervention des différentes classes d'immunoglobulines est très inégale, le rôle des IgM apparaissant primordial ainsi que nous l'avons déjà signalé.

La spécificité de la réaction s'est révélée par ailleurs excellente. C'est ainsi que les sérums peuvent être examinés à de faibles dilutions sans donner lieu à une fluorescence non spécifique. D'autre part, l'examen de sérums provenant de souris infestées par des parasites voisins comme *Fasciola hepatica* ou réputés donner lieu à des réactions croisées comme *Trichinella spiralis* ne donnent lieu à aucune réaction positive, même lorsqu'il s'agit de sérums très riches en anticorps. Les raisons de cette spécificité résident probablement dans la mise en jeu au cours de la réaction, de structures antigéniques limitées, localisées à l'épithélium intestinal et connues pour leur spécificité. Il faut en effet signaler qu'au niveau de l'épithélium intestinal sont localisés deux antigènes spécifiques du genre : « l'antigène 4 » et « l'antigène 1 » décrits par Capron (3). L'antigène 1, polysaccharide de mobilité cathodique, extractible par l'acide trichloracétique, thermostable, de poids moléculaire élevé n'est pas sans analogie avec l'antigène protéoglycanique décrit par Nash.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSON R. I., SADUN E. H., WILLIAMS J. S. : Preserved cercariae in the fluorescent antibody test for schistosomiasis. *Exp. Parasitol.*, 1961, 11, 226-230.
2. BOUT D., DUPAS H., CAPRON M., EL GAZAWI A., CARLIER Y., DELACOMTE A., CAPRON A. : Purification, immunochemical and biological characterization of malate dehydrogenase of *Schistosoma mansoni*. *Immunochem.*, 1978, 17, 633-638.
3. BOUT D., CARLIER Y., DESSAINT J. P., CAPRON A. : Characterization and purification of *Schistosoma mansoni* antigens. In : Les Colloques de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. Immunity in parasitic diseases. *INSERM*, Sept. 1977, vol. 72, pp. 71-86.
4. BOUT D., ROUSSEAU R., CARLIER Y., CAPRON A. : Kinetics of classes and sub-classes of total immunoglobulins and specific antibodies to *Schistosoma mansoni* during murine infection. *Parasitology*, 1980, 80, 247-256.
5. CARLIER Y., BOUT D., CAPRON A. : Further studies on the circulating M antigen in human and experimental *Schistosoma mansoni* infections. *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)*, 1978, 129C, 811-818.
6. COUDERT J., GARIN J. P., AMBROISE-THOMAS P., POTHIER M. A. : Premiers résultats à propos du diagnostic sérologique de la bilharziose par immunofluorescence sur coupes à la congélation de *Schistosoma mansoni*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1967, 42, 483-492.
7. COUDERT J., GARIN J. P., AMBROISE-THOMAS P., POTHIER M. A., KIEN-TRUONG T. : Diagnostic sérologique par immunofluorescence sur coupes à congélation, d'infections à *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* et *S. intercalatum*. *Acta Trop.*, 1968, 25, 109-132.
8. DEELDER A. M., KLAFFE H. T. M., VAN DEN ARDWEG G. J. M. J., VAN MEERBEKE E. H. E. M. : *Schistosoma mansoni* : démonstration of two circulating antigens in infected hamsters. *Exp. Parasitol.*, 1976, 40, 189-197.
9. HILL A. G., DEANE H. W., COONS A. H. : Localization of antigens in tissue cells. *J. Exp. Med.*, 1950, 92, 35-44.
10. KIEN TRUONG T., SARASIN G., AMBROISE-THOMAS P. : Comparative evolution of the fluorescent antibodies directed against the larval stages and the adults of *Schistosoma mansoni*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1970, 64, 87-92.
11. LICHTENBERG F. V., BOWDEN M. P., SHEALEY S. H. : Origin of circulating antigen from the schistosome gut. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1974, 23, 1088-1091.
12. MITCHELL G. F. : Responses to infection with Metazoan and Protozoan parasites in mice. *Adv. Immunol.*, 1979, 28, 451-511.
13. NASH T. E. : Localization of the circulating antigen within the gut of *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1974, 23, 1085-1087.
14. NASH T. E. : Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1978, 27, 938-943.
15. NIEL G., RICHARD-LENOBLE D., GENTILINI M. : Deux aspects particuliers du marquage fluorescent sur coupes à la congélation de *Schistosoma mansoni* au cours des Trichinoses et des Bilharzioses. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1976, 69, 151-156.
16. OKABE K., TANAKA T. : A new urine precipitation reaction for schistosomiasis japonica, a preliminary report. *Kurume M. J.*, 1958, 5, 45-52.
17. OKOT-KOTBER B. M. : The development of stage-characteristic immunofluorescence patterns in experimental schistosomiasis in mice. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1978, 72, 255-262.
18. RAMALHO-PINTO F. J., DE ROSSI R., SMITHERS S. R. : Murine Schistosomiasis mansoni : antischistosomula antibodies and the IgG subclasses involved in the complement and eosinophil mediated killing of schistosomula *in vitro*. *Parasite Immunology*, 1979, 1, 295-308.
19. VAN HELDEN H. P. T., TERPSTRA W. J., RYAKUZE V. M. : Specific Ig, IgG, IgM, IgA and IgE in human schistosomiasis. *E. Afr. J. Med. Res.*, 1975, 2, 305-312.
20. VAN HELDEN H. P. T., TERPSTRA W. J., OKOT-KOTBER B. M., RYAKUZE V. M. : Are there stage-characteristic immunofluorescence patterns in schistosomiasis ? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1975, 69, 309-311.