**ÉTUDE PAR LA RÉACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE
DES ANTICORPS DIRIGÉS CONTRE LES ANTIGÈNES
DE L'ÉPITHÉLIUM INTESTINAL DE *SCHISTOSOMA MANSONI***

**IV. Étude du pouvoir bloquant sur l'immunité
d'un anticorps monoclonal de classe IgM**

M. APPRIOU, R. BEN YOUNES,
J. TRIBOULEY-DURET, J. TRIBOULEY*

RÉSUMÉ. Les expériences de transfert passif réalisées dans ce travail mettent en évidence le pouvoir bloquant sur l'immunité d'un anticorps monoclonal de Souris de classe IgM dirigé contre un épitope présent au niveau de l'épithélium intestinal du Ver adulte ainsi qu'au niveau d'autres structures du parasite comme la membrane externe des schistosomules.

Le pouvoir bloquant mis en évidence se manifeste aussi bien chez des Souris neuves dépourvues de toute immunité spécifique vis-à-vis du parasite que chez des Souris pourvues d'une immunité acquise à la suite d'une primo-infection.

Le pouvoir bloquant ainsi observé pourrait donc résulter d'une interférence de l'anticorps monoclonal étudié avec des facteurs de défense non spécifiques de l'organisme.

Mots-clés : Immunofluorescence. Anticorps monoclonal. Anticorps bloquant. *Schistosoma mansoni*.

Study of fluorescent antibodies directed against the gut epithelium of *Schistosoma mansoni*. IV. Blocking activity of an IgM monoclonal antibody.

SUMMARY. The inhibitory effect on immunity is demonstrated by passive transfer experiments in mice. It can be shown in a secondary infection with *Schistosoma mansoni* and also in primary infection. The results indicate that blocking activity probably interferes with non specific immunity mechanisms.

Key-words: Fluorescent antibodies. Monoclonal antibody. Blocking antibody. *Schistosoma mansoni*.

Les recherches récentes utilisant des anticorps monoclonaux ont permis de reconnaître divers déterminants antigéniques au niveau des différents stades

* Laboratoire d'Immunologie et Biologie Parasitaire (UFR Médicale I de l'Université de Bordeaux II, 146, rue Léo-Saignat, F 33076 Bordeaux Cedex ; Pr J. TRIBOULEY) et Laboratoire d'Immunologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Bordeaux II, 3, Place de la Victoire, F 33076 Bordeaux Cedex ; Pr J. TRIBOULEY-DURET).

Accepté le 26 juillet 1989.

évolutifs des Schistosomes. Des expériences de transfert passif ont montré que certains des anticorps monoclonaux étudiés sont doués d'un pouvoir protecteur, ce qui a permis l'identification d'antigènes vaccinaux (4, 17). Parmi les mécanismes mis en jeu, les mécanismes de cytotoxicité cellulaire à médiation humorale (ADCC) ont été particulièrement étudiés (3). Par la suite, on a pu observer que certains anticorps monoclonaux non protecteurs étaient en mesure d'inhiber spécifiquement l'action des anticorps protecteurs (5, 8, 10, 19). Il s'agit d'anticorps bloquants qu'on estime entrer en compétition pour les sites de l'antigène avec les anticorps protecteurs et dont l'importance peut être considérable dans la mesure où ils sont susceptibles de moduler la réaction de défense de l'organisme vis-à-vis du parasite. Les anticorps bloquants peuvent appartenir à différents isotypes, mais il s'agit principalement d'IgM.

Nous avons précédemment décrit un anticorps monoclonal de classe IgM dirigé contre un épitope de l'épithélium intestinal du vers adulte de *Schistosoma mansoni*. L'anticorps étudié réagit contre une structure de nature glucidique présente aux différents stades d'évolution du parasite ainsi que dans les urines de l'organisme infesté (1).

Dans le présent travail nous rapportons différentes données relatives aux propriétés biologiques de cet anticorps et à son rôle au cours des réactions de défense de l'organisme. Les résultats obtenus à l'aide d'expériences de transfert passif montrent que l'IgM étudiée est dépourvue de pouvoir protecteur. Elle manifeste par contre un pouvoir bloquant sur l'immunité lorsqu'elle est inoculée à des Souris en état d'immunité acquise à la suite d'une primo-infestation. Mais un pouvoir bloquant du même ordre peut être également observé lorsque l'anticorps est administré à des Souris neuves, non infestées et par conséquent dépourvues d'immunité spécifique. Les résultats observés suggèrent que l'anticorps bloquant étudié ne peut dans ce cas interférer avec des anticorps protecteurs mais avec des facteurs de défense non spécifiques, tels que le complément.

Matériel et techniques

PARASITES

Les différents stades évolutifs du parasite sont obtenus à partir de la souche L. E. Belo Horizonte de *Schistosoma mansoni* entretenue au laboratoire sur Hamster, le Mollusque *Biomphalaria glabrata* servant d'hôte intermédiaire.

Les cercaires sont recueillies à partir de Mollusques infestés 4 à 6 semaines auparavant, la suspension étant concentrée par filtration sur un filtre de 1,2 μ m de porosité, non toxique pour les cercaires*.

Les œufs du parasite sont purifiés à partir de foies de hamsters parasités suivant un procédé que nous avons décrit dans un précédent travail (2).

* Filtre Metricel de porosité 1,2 μ . Réf. TCM 1200.

Les schistosomules cutanées sont obtenues *in vitro* en faisant pénétrer des cercaires à travers un fragment de peau isolée de Souris suivant la technique de Clegg et Smithers (6).

Les schistosomules pulmonaires sont obtenues à partir de poumons de Souris infestées 5 jours auparavant. Elles sont recueillies à partir des poumons coupés en morceaux de 1 mm après filtration sur un filtre de nylon de 200 μ m de porosité suivant la technique de Sher (16).

ANTICORPS MONOCLONAL

L'anticorps monoclonal utilisé est un anticorps de classe IgM dirigé contre un épitope de nature glucidique dont nous avons étudié la réactivité pour l'antigène dans un précédent travail (1). Cet anticorps est obtenu à partir de fluides ascitiques recueillis chez des Souris BALB/c traitées par une injection intrapéritonéale de 0,5 ml d'adjuvant incomplet de Freund la veille de l'injection des cellules de l'hybridome.

Il est purifié par filtration du liquide ascitique sur un gel de Sephacryl S300-HR* dans une colonne de 1,6 $\times$ 100 cm. Les différentes fractions sont éluées par une solution de NaCl 0,15 M à un débit de 60 ml/heure. L'anticorps IgM est recueilli dans le premier pic et sa concentration exprimée en protéines est déterminée par la technique de Sedmak (15). Il est finalement concentré par filtration sur membrane Diaflo-Amicon XM300 et la solution est ajustée à la concentration de 4 mg/ml.

EXPÉRIENCES DE TRANSFERT PASSIF

Elles sont effectuées chez des Souris Swiss d'environ 20 g. Les Souris étudiées sont soumises à une infestation d'épreuve par balnéation dans une suspension contenant 2 000 cercaires. La veille de l'infestation d'épreuve et les 5 jours suivants, l'anticorps monoclonal est injecté à chaque souris à raison de 2 mg/jour par voie intrapéritonéale. Au 5^e jour de l'infestation, les schistosomules parvenues au niveau des poumons sont dénombrées par la technique de Sher (16). Les valeurs observées sont comparées à celles de témoins soumis à la même infestation d'épreuve mais n'ayant pas reçu l'anticorps monoclonal étudié.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Dans une expérience préliminaire, l'anticorps monoclonal est administré dans les conditions décrites à 3 Souris en état d'immunité, car se trouvant à la 10^e semaine d'une primo-infestation tandis que 3 autres Souris également à la 10^e semaine d'une primo-infestation reçoivent de l'eau physiologique à la place de l'anticorps monoclonal. De plus, 3 autres Souris non soumises à une primo-infestation, donc dépourvues d'immunité reçoivent de l'eau physiologique. Toutes les Souris traitées sont soumises à la même infestation d'épreuve dans les condi-

* Sephacryl S300. Haute résolution. Pharmacia.

tions décrites en utilisant la même suspension de cercaires pour les différents lots. Les schistosomules présentes au niveau des poumons sont dénombrées pour chaque Souris 5 jours plus tard.

Une deuxième expérience analogue est effectuée par la suite en utilisant des Souris en état d'immunité à la 13^e semaine d'une primoinfestation.

Une troisième expérience analogue est effectuée par la suite en utilisant des Souris en état d'immunité à la 16^e semaine d'une primoinfestation.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Afin de tester la spécificité d'action de l'anticorps monoclonal étudié, une deuxième série d'expériences utilisant le même protocole est effectuée en utilisant un lot témoin supplémentaire auquel est administré une IgM de Souris de spécificité différente (anticorps IgM dirigé contre la spécificité de groupe sanguin AB*).

Dans un premier lot de 9 Souris en état d'immunité (12^e semaine d'infestation), 3 reçoivent de l'eau physiologique, 3 reçoivent l'anticorps monoclonal anti-AB et 3 l'anticorps monoclonal étudié. Un deuxième lot de 9 Souris dépourvues d'immunité est testé dans les mêmes conditions.

Afin d'obtenir confirmation des résultats observés avec ce dernier lot, 2 lots supplémentaires de 9 Souris chacun sont testés dans les mêmes conditions.

TROISIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Deux lots de 10 Souris dépourvues d'immunité sont traitées l'un par des injections d'eau physiologique, l'autre par des injections de l'anticorps monoclonal étudié, le reste du protocole étant sans changement.

CARACTÉRISATION DE CERTAINES PROPRIÉTÉS DE L'ANTIGÈNE SPÉCIFIQUE DE L'ANTICORPS MONOCLONAL ÉTUDIÉ

LOCALISATION DE L'ANTIGÈNE au niveau des formes infestantes et d'invasion du parasite (cercaires, schistosomules cutanées, schistosomules pulmonaires).

L'antigène est recherché à ce niveau par la réaction d'immunofluorescence directe, à l'aide de l'anticorps monoclonal marqué par l'isothiocyanate de fluorescéine. La réaction est pratiquée en tubes : en bref 100 μ l d'anticorps marqué dilué au 1/10 est ajouté au culot de centrifugation de 100 μ l de suspension d'éléments parasitaires à étudier. Après 30 mn de contact à la température du laboratoire, la suspension est lavée 3 fois en P. B. S., montée entre lame et lamelle en eau glycinée tamponnée pour l'examen microscopique.

ACTIVATION DU COMPLÉMENT PAR L'ANTIGÈNE

L'antigène est obtenu à partir d'un extrait ovulaire précipité par le sulfate d'ammonium à demi-saturation (11). Il est ensuite purifié par chromatographie d'affinité, puis concentré et titré par la technique au phénol-acide sulfurique (7).

Le pouvoir d'activation du complément est estimé à l'aide d'une technique

* Nous remercions le Dr CHEVALEYRE qui nous a fourni le liquide d'ascite contenant cet anticorps (Centre Régional de Transfusion Sanguine de Bordeaux. Directeur : Dr VEZON).

dérivée de celle de Deelder (16) : 250 μ l de sérum humain fraîchement recueilli est mis à incuber pendant 30 mn à 37° C avec 250 μ l de solution antigénique à tester. Plusieurs solutions de concentrations variables sont testées : 30 μ g, 15 μ g, 7,5 μ g, 3,7 μ g, 1,87 μ g/ml. Un tube témoin contenant 250 μ l de sérum additionné de 250 μ l de tampon de Mayer est mis à incuber parallèlement. Au bout du temps d'incubation l'activité hémolytique résiduelle exprimée en Unités CH50 est mesurée pour chacun des tubes. Les résultats exprimés en pourcentage d'inhibition par rapport au témoin sont rapportés sur un graphique.

ANALYSE STATISTIQUE DES RÉSULTATS

Les valeurs moyennes obtenues ont été comparées par la méthode du *t* de Student.

Résultats

EXPÉRIENCES DE TRANSFERT PASSIF

Les résultats rapportés sur le *tableau I* confirment tout d'abord un phénomène bien connu : des Souris qui ont été précédemment soumises à une primoinfestation montrent un état de résistance acquise important par rapport à des témoins neufs lorsqu'elles sont soumises à une réinfestation. De plus, l'injection de l'IgM antischistosome étudiée à de telles Souris en état d'immunité entraîne un blocage partiel des réactions de défense de l'organisme : on observe en effet chez les Souris en état d'immunité ayant reçu des injections d'IgM un nombre de parasites supérieur à celui retrouvé chez les Souris qui n'ont pas reçu l'anticorps*. On peut donc conclure que l'anticorps monoclonal de classe IgM étudié manifeste un pouvoir bloquant sur l'immunité observée chez les Souris soumises à une primoinfestation.

Les résultats rapportés sur le *tableau II* montrent que l'action de l'anticorps monoclonal antischistosome étudié est bien spécifique : l'injection d'un anticorps monoclonal dirigé contre un antigène non bilharzien (spécificité anti-AB) ne modifie pas la résistance des Souris en état d'immunité. Il est également sans effet sur la résistance naturelle opposée au parasite par des Souris neuves non infestées.

De plus, les résultats rapportés sur le *tableau II* montrent que le pouvoir bloquant de l'IgM antischistosome se manifeste également vis-à-vis de la résistance naturelle de Souris neuves non infestées. Chez des Souris neuves auxquelles l'anticorps IgM antischistosome a été administré, le nombre de larves pulmonaires retrouvées le 5^e jour d'une infestation d'épreuve est en effet supérieur à celui retrouvé chez les mêmes Souris neuves n'ayant pas reçu l'anticorps. Ces résultats sont confirmés par les données rapportées sur le *tableau III* ainsi que par ceux d'une dernière expérience de transfert passif où deux lots de 10 Souris neuves sont testés : l'un auquel est injecté de l'eau physiologique, l'autre l'IgM antischistosome étudiée. Au 5^e jour de l'infestation d'épreuve le nombre moyen de schistosomules

TABLEAU I. — Étude du pouvoir bloquant d'un anticorps monoclonal antischistosome de classe IgM sur l'immunité acquise de la Souris à différentes dates d'une primoinfestation (10^e semaine, 13^e semaine, 16^e semaine). Les résultats rapportés correspondent à 3 expériences successives effectuées à des temps différents, un lot de souris témoin non immunisé a été inclus dans chaque expérience. Les valeurs rapportées correspondent au nombre de schistosomules pulmonaires recueillies pour chaque animal au 5^e jour de l'infestation d'épreuve par 2 000 cercaires de *Schistosoma mansoni*. La comparaison des moyennes observées pour les Souris en état d'immunité ayant reçu de l'anticorps et celles n'en ayant pas reçu montre que les différences observées sont statistiquement significatives ($p < 0,001$ à la 10^e semaine, $p < 0,06$ à la 13^e semaine, $p < 0,002$ à la 16^e semaine).

	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Moyenne + écart - type
Souris témoins dépourvues d'immunité ayant reçu des injections d'eau physiologique	227	246	219	230,6 ± 13,8
Souris témoins en état d'immunité (10 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'eau physiologique	13	12	20	15,0 ± 4,3
Souris en état d'immunité (10 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal	65	70	55	63,3 ± 7,6
Souris témoins dépourvues d'immunité ayant reçu des injections d'eau physiologique	148	142	157	149,0 ± 7,5
Souris témoins en état d'immunité (13 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'eau physiologique	32	62	74	56,0 ± 27,6
Souris en état d'immunité (13 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal	99	82	125	102,0 ± 21,6
Souris témoins dépourvues d'immunité ayant reçu des injections d'eau physiologique	215	253	204	224,0 ± 25,7
Souris témoins en état d'immunité (13 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'eau physiologique	61	90	animal décédé	75,5 ± 20,5
Souris en état d'immunité (13 ^{ème} semaine d'une primoinfestation) ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal	250	267	235	250,6 ± 16,0

TABLEAU II. — Étude de la spécificité d'action de l'anticorps monoclonal antischistosome. L'activité de l'anticorps est testée parallèlement à celle d'un autre anticorps monoclonal de Souris de classe IgM de spécificité différente (Anticorps anti-AB). Deux lots de Souris, en état d'immunité et dépourvues d'immunité sont testées simultanément. Les valeurs rapportées correspondent au nombre de schistosomules pulmonaires recueillies pour chaque animal au 5^e jour de l'infestation d'épreuve par 2 000 cercaires de *Schistosoma mansoni*. Dans un cas comme dans l'autre l'injection d'anticorps monoclonal anti-AB ne modifie pas la réceptivité de la Souris pour les Schistosomes. Par contre, l'injection de l'anticorps monoclonal antischistosome étudié augmente la réceptivité vis-à-vis du parasite. La comparaison des moyennes observées est statistiquement significative.

		Souris 1	Souris 2	Souris 3	Moyenne + écart - type
Souris dépourvues d'immunité (Souris non infestées)	Ayant reçu des injections d'eau physiologique	90	85	71	82,0 $\pm$ 9,8
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal antischistosome	245	187	196	209,3 $\pm$ 31,2
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal anti-AB	75	82	93	83,3 $\pm$ 9,0
Souris d'immunité 12ème semaine d'une primoinfestation	Ayant reçu des injections d'eau physiologique	35	24	36	31,6 $\pm$ 6,6
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal antischistosome	69	60	64	64,3 $\pm$ 4,5
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal anti-AB	30	20	47	32,3 $\pm$ 13,6

pulmonaires recueillies chez les Souris ayant reçu l'eau physiologique est de $m = 191,6 \pm 27,0$ tandis que chez les Souris ayant reçu l'anticorps antischistosome $m = 291,1 \pm 35,4$. La différence entre ces 2 valeurs est statistiquement très significative ($p < 0,001$).

TABLEAU III. — Étude comparée de l'action de l'anticorps monoclonal antischistosome et de l'anticorps monoclonal anti-AB sur des Souris dépourvues d'immunité. Même protocole général que pour les expériences précédentes. La même expérience est répétée deux fois à une semaine d'intervalle (Expériences A et B). L'injection de l'anticorps monoclonal antischistosome étudie augmente la réceptivité vis-à-vis du parasite. La comparaison des moyennes observées est statistiquement significative.

		Souris 1	Souris 2	Souris 3	Moyenne + écart - type
Souris dépourvues d'immunité (Souris non infestées) Expérience A	Ayant reçu des injections d'eau physiologique	147	178	163	162,6 $\pm$ 15,5
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal antischistosome	256	242	264	254,0 $\pm$ 11,1
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal anti-AB	155	138	166	153,0 $\pm$ 14,1
Souris dépourvues d'immunité (Souris non infestées) Expérience B	Ayant reçu des injections d'eau physiologique	203	233	287	241,0 $\pm$ 42,6
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal antischistosome	362	376	391	376,3 $\pm$ 14,5
	Ayant reçu des injections d'anticorps monoclonal anti-AB	258	274	211	247,6 $\pm$ 32,7

Les différentes expériences de transfert passif relatées plus haut mettent donc en évidence un pouvoir bloquant vis-à-vis de l'immunité acquise à la suite d'une primo-infestation, mais aussi vis-à-vis de l'immunité naturelle de Souris neuves.

LOCALISATION DE L'ANTIGÈNE SPÉCIFIQUE DE L'ANTICORPS ANTISCHISTOSOME ÉTUDIÉ AU NIVEAU DES FORMES INFESTANTES ET D'INVASION DU PARASITE

La réaction d'immunofluorescence directe utilisant l'anticorps marqué à la fluorescéine permet de localiser l'antigène au niveau de certaines formes d'invasion

du parasite. L'antigène est principalement mis en évidence au niveau de la membrane des schistosomules cutanées, sa présence est plus inconstante au niveau des schistosomules pulmonaires : certaines se montrent totalement négatives

FIG. 1. — Localisation de l'antigène spécifique de l'anticorps antischistosome étudié au niveau des formes d'invasion du parasite.

La réaction d'immunofluorescence directe utilisant l'anticorps marqué à la fluorescéine permet de localiser l'antigène essentiellement au niveau des schistosomules cutanées (A). La présence de l'antigène au niveau des schistosomules pulmonaires est inconstante : Au niveau des éléments parasitaires où il peut être détectable, il apparaît comme une bordure fluorescente de faible intensité et plus ou moins discontinue (B).

tandis que pour d'autres la présence de l'antigène peut être détectée au niveau de la membrane, mais de manière plus ou moins discontinue (*fig. 1*). Au niveau des cercaires, la recherche de l'antigène est négative.

ACTIVATION DU SYSTÈME DU COMPLÈMENT PAR L'ANTIGÈNE

Pour déterminer l'activation du complément par l'antigène, différentes concentrations d'antigène purifié par chromatographie d'affinité ont été mises

FIG. 2. — Courbe de consommation du complément total d'un sérum humain normal en fonction de la dose d'antigène introduite dans la réaction en présence de tampon de Mayer (Le pourcentage de consommation correspond au rapport :

$$\frac{\text{U CH50 du sérum normal en l'absence d'antigène} - \text{U CH50 du sérum normal en présence d'antigène}}{\text{U CH50 du sérum normal en l'absence d'antigène}} \times 100$$

en contact avec un sérum humain récemment prélevé et la consommation du complément a été mesurée par la détermination de l'activité hémolytique résiduelle exprimée en pourcentage d'activité du même sérum humain incubé pendant un temps équivalent en solution de Mayer. Les résultats rapportés sur la *figure 2* montrent que la consommation du complément est dose-dépendante et peut atteindre 70 % de l'activité initiale pour une concentration de 30 μg d'antigène/ml.

Discussion

Les études récentes faisant appel à la technologie des anticorps monoclonaux ont permis une caractérisation précise ainsi que l'isolement de divers antigènes de Schistosomes. Certains anticorps monoclonaux se sont révélés doués d'un pouvoir de protection vis-à-vis de l'infestation parasitaire et des antigènes vaccinnants ont pu ainsi être identifiés (4). Mais de façon assez surprenante d'autres anticorps dirigés contre les mêmes antigènes ont montré un pouvoir inhibiteur sur les processus d'immunité. C'est ainsi que chez le Rat un anticorps d'isotype IgG_{2c} dépourvu de tout pouvoir protecteur s'est révélé capable d'inhiber de façon spécifique la cytotoxicité dépendant des éosinophiles médiée par un anticorps d'isotype IgG_{2a} (10). L'effet inhibiteur observé semble relever d'un double mécanisme de compétition avec l'anticorps protecteur : compétition pour le même épitope de l'antigène et compétition pour le même récepteur $\text{Fc}\gamma$ au niveau de la membrane de la cellule éosinophile. Des observations analogues ont pu être effectuées chez la Souris (17) et c'est ainsi que, parmi 6 anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes polysaccharidiques, Smithers rapporte que 3 d'entre eux sont protecteurs et les 3 autres inhibiteurs. Les anticorps inhibiteurs sont de classe IgM et sont dirigés contre des structures polysaccharidiques présentes au niveau des différents stades d'évolution du parasite et elles sont en particulier partagées par les schistosomules et le miracidium. Il s'agit donc d'un phénomène assez général dont l'importance est très grande, car il est en mesure de moduler la réponse immunitaire et il a également été signalé chez l'homme (5, 8). Les sérums prélevés chez des sujets présentant une immunité contre les Schistosomes manifestent un pouvoir cytotoxique pour le parasite lorsqu'ils sont mis en présence d'éosinophiles et de schistosomules. Après fractionnement des immunoglobulines, on constate que le pouvoir cytotoxique de la fraction IgG est plus élevé que celui du sérum total initial. La fraction IgM manifeste par contre un pouvoir inhibiteur sur le phénomène. IgG et IgM sont dirigées contre un même antigène polysaccharidique de 38 Kd pour lequel elles rentrent en compétition.

L'anticorps IgM dont nous étudions l'activité est dirigé contre un épitope glucidique porté par des structures de poids moléculaire très hétérogène et partagées par différents stades évolutifs du parasite. Les résultats des expériences de transfert passif rapportés plus haut montrent que l'anticorps étudié est également doué d'un pouvoir bloquant sur l'immunité. Mais il faut souligner que le pouvoir bloquant observé se manifeste non seulement chez l'animal antérieurement soumis

à une primoinfestation, donc doué d'immunité acquise et porteur d'anticorps, mais aussi chez l'animal neuf dépourvu d'immunité spécifique et par conséquent dépourvu d'anticorps. Le pouvoir bloquant de l'anticorps monoclonal étudié ne peut donc s'expliquer par une compétition avec un anticorps d'un autre isotype. Il faut nécessairement envisager l'interférence de l'anticorps avec d'autres mécanismes de défense. On peut formuler l'hypothèse selon laquelle l'anticorps injecté à l'animal durant les premiers jours de l'infestation va recouvrir au niveau des formes d'invasion du parasite des structures de surface qui vont ainsi être masquées et devenir inaptes à déclencher des réactions de défense non spécifiques telles que l'activation du complément. Les résultats préliminaires présentés dans ce travail confirment en effet la présence de telles structures reconnues par l'anticorps à la surface des schistosomules cutanées. Nous avons montré dans un précédent travail que ces structures sont également présentes au niveau d'autres stades évolutifs du parasite et en particulier au niveau du miracidium où elles sont particulièrement abondantes (1). Ces données sont à rapprocher des observations de Smithers selon lequel les épitopes de surface des schistosomules essentiellement de nature glucidique s'expriment également au niveau des antigènes ovulaires. Les IgM élaborées contre ces structures manifestent un pouvoir bloquant sur l'immunité (17). Le rôle du stade ovulaire dans l'élaboration de ce type d'anticorps semble donc important.

D'autre part, une solution pure de l'antigène ayant pu être obtenue par chromatographie d'affinité, sa réactivité *in vitro* vis-à-vis du complément a pu être testée : une consommation du complément dépendant de la dose d'antigène ajoutée au milieu est ainsi observée. L'hypothèse selon laquelle l'anticorps monoclonal étudié peut bloquer l'activation du système du complément en masquant les structures activatrices à la surface de la schistosomule pourrait donc être émise. Plusieurs études effectuées à la fois *in vivo* et *in vitro* ont en effet montré le rôle du complément dans les phénomènes de cytotoxicité développés par l'organisme à l'encontre des schistosomules en l'absence d'anticorps (12, 13, 14). C'est ainsi que des Souris traitées par une injection de CVF (Cobra Venon Factor) sont beaucoup plus réceptives à une primoinfestation (14).

RÉFÉRENCES

1. APPRIOU M., TRIBOULEY-DURET J., TRIBOULEY J. : Étude par la réaction d'immunofluorescence des anticorps dirigés contre les antigènes de l'épithélium intestinal de *Schistosoma mansoni*. III. Étude de la réactivité d'un anticorps monoclonal. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 435-446.
2. BALTZ T., LACASSIE I., TRIBOULEY-DURET J., TRIBOULEY J. : Density-Gradient Separation of *Schistosoma mansoni* Eggs. *J. Parasitol.*, 1982, 61, 963-965.
3. CAPRON A., DESSAINT J. P. : Effector and regulatory mechanisms in immunity to schistosomes: A Heuristic view. *Ann. Rev. Immunol.*, 1985, 3, 455-476.
4. CAPRON A., PIERCE R., BALLOUL J. M., GRZYCH J. M., DISSOUS C., SONDERMEYER P., LECOCQ J. P. : Protective antigens in experimental schistosomiasis. *Acta Trop.*, 1987, 44, Suppl. 12, 63-69.
5. CAPRON M., CAPRON A., KHALIFE J., BUTTERWORTH A. E., GRZYCH J. M. : Blocking antibodies and vaccine strategy in schistosomiasis. *Acta Trop.*, 1987, 44, Suppl. 12, 55-62.

6. CLEGG J. A., SMITHERS S. R. : The effects on immune rhesus monkey serum on schistosomula of *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. *Int. J. Parasitol.*, 1972, 12, 79-98.
 7. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P. A., SMYTH F. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.*, 1956, 28, 350-356.
 8. DUNNE D. W., BICKLE Q. D., BUTTERWORTH A. E., RICHARDSON B. A. : The blocking of human antibody-dependent eosinophil mediated killing of *Schistosoma mansoni* schistosomula by monoclonal antibodies which cross-react with a polysaccharide-containing egg antigen. *Parasitology*, 1987, 94, 269-280.
 9. FAURE M., DUPOUEY P., MORELEC M. J. : Les techniques de l'immunofluorescence et les réactions immunoenzymatiques. *Maloine*, Paris, 1977.
 10. GRZYCH J. M., CAPRON M., DISSOUS C., CAPRON A. : Blocking Activity of Rat Monoclonal Antibodies in Experimental Schistosomiasis. *J. Immunol.*, 1984, 133, 998-1004.
 11. OUATTARA S. A., SAUNERON M. F., TRIBOULEY-DURET J., TRIBOULEY J. : Diagnostic sérologique de la bilharziose à *S. mansoni* à l'aide d'un extrait ovulaire semi-purifié par précipitation par le sulfate d'ammonium. *Bull. Soc. Pathol. Ex.*, 1986, 79, 766-771.
 12. SANTORO F., LACHMANN P. J., CAPRON A., CAPRON M. : Activation of complement by *Schistosoma mansoni* schistosomula: Killing of parasites by the alternative pathway and requirement of IgG for classical pathway activation. *J. Immunol.*, 1979, 123, 1551-1557.
 13. SANTORO F., PESTEL J., LE PRESLE T., LIEBARD M. C., CAPRON A. : *Schistosoma mansoni* anticomplementary antigens (SACA). *Immunol. Letters*, 1980, 2, 43-46.
 14. SANTORO F., VANDEMEULEBROUCKE B., LIEBARD M. C., CAPRON A. : *Schistosoma mansoni* : Role *in vivo* of Complement in Primary Infection of Mice. *Exp. Parasitol.*, 1982, 54, 40-46.
 15. SEDMAK J. J., GROSSBERG S. E. : A rapid, sensitive and versatile assay for protein using Coomassie brilliant G250. *Ann. Biochem.*, 1977, 79, 544-552.
 16. SHER F. A., MACKENZIE P., SMITHERS S. R. : Decreased recovery of invading parasites from lungs as a parameter of acquired immunity to schistosomiasis in mouse. *J. Infect. Dis.*, 1974, 130, 626-633.
 17. SMITHERS S. R., SIMPSON A. J. G., YI X., OMER-ALI P., KELLY C., McLAREN D. J. : The mouse model of Schistosoma Immunity. *Acta Trop.*, 1987, 44, Suppl. 12, 21-30.
 18. VAN EGMONT J. G., DEELDER A. M., DAHA M. R. : *Schistosoma mansoni* : Complement activation by Antigenic Preparations. *Exp. Parasitol.*, 1981, 51, 188-194.
 19. YI X., SIMPSON A. J. G., DE ROSSI R., SMITHERS S. R. : The presence of antibody in mice chronically infected with *Schistosoma mansoni* which blocks *in vitro* killing of Schistosomula. *J. Immunol.*, 1986, 137, 3955-3958.
-