

50376  
1975  
172

THESE DE TROISIEME CYCLE  
(Biologie Cellulaire)

---

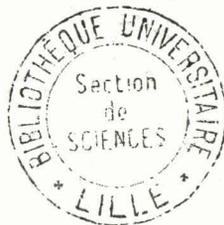
Daniel POULAIN

---

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RELATIONS HOTE-PARASITE  
AU COURS DE LA DERMATOPHYTIE EXPERIMENTALE DU  
COBAYE PAR TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

. Etude de l'immunité à médiation cellulaire in-vitro par tests  
immunologiques et in-vivo en microscopie électronique.

. Etude cytochimique ultrastructurale de la paroi du dermatophyte



Présentée en septembre 1975

devant la commission d'examen.

Jury d'examen : MM. E. VIVIER Président.  
J. BIGUET Rapporteur.  
E. BONNOT Examineur.  
A. VERNES Examineur.

1

INTRODUCTION

\*

Les "teignes", connues depuis l'antiquité, constituent encore de nos jours des affections très courantes. L'étude de leurs agents pathogènes et des relations qu'ils présentent avec divers hôtes fut entreprise dès le siècle dernier, c'est dire la masse considérable de travaux parus sur ce sujet. Actuellement les recherches bénéficient des techniques les plus poussées de cytologie, d'immunologie et de biochimie. Une analyse, même rapide, de la bibliographie récente permet de constater que les travaux portent principalement sur la recherche d'anticorps chez les hôtes parasités. Paradoxalement, les travaux fort intéressants réalisés durant la première moitié de ce siècle, et concernant ce que nous appellerions maintenant la résistance cellulaire opposée par l'hôte à l'invasion de ses téguments, semblent actuellement abandonnés.

Dans ce domaine de l'immunologie cellulaire, l'association de tests récents, permettant d'explorer de façon très précise, *in vitro*, la réactivité des cellules immunologiquement compétentes vis-à-vis des antigènes parasitaires d'une part, et de l'étude ultrastructurale, permettant de préciser *in vivo* les rapports intimes entre ces mêmes cellules et le parasite d'autre part, nous a paru une démarche logique, permettant de contrôler de nombreux paramètres, et pouvant être riche en enseignements.

Dans un domaine très proche, les études sur l'antigénicité des composants mycéliens sont très nombreuses, notamment en ce qui concerne les polysaccharides. L'ultrastructure des parois de dermatophytes est par ailleurs assez bien connue. Il nous a semblé intéressant de rechercher des informations nouvelles, en analysant les structures pariétales après une réaction de mise en évidence des polysaccharides sur coupe ultrafine.

# PLAN GENERAL

\*

Introduction

Premier chapitre : Rappel bibliographique

Deuxième chapitre : Matériel et Méthodes

Troisième chapitre : Résultats

Quatrième chapitre : Discussion

Résumé

Conclusion

Références bibliographiques

Table des matières

Annexe : Planches

Premier CHAPITRE

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE



PREMIER CHAPITRE : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE.

I.- CARACTERES BIOLOGIQUES DES DERMATOPHYTES ET DE *Trichophyton mentagrophytes* EN PARTICULIER.

II.- FACTEURS DE L'IMMUNITE, ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE.

A.- FACTEURS DE L'IMMUNITE.

1°) Immunité non spécifique

2°) Immunité spécifique

Facteur humoraux

Facteurs cellulaires

B.- ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE.

1°) Lymphocyte

a) le lymphoblaste

b) le lymphocyte au repos

c) le lymphocyte activé

2°) Le plasmocyte.

3°) Cellules du système phagocytaire mononucléaire.

a) le monocyte

b) le macrophage

III.- IMMUNOLOGIE DES DERMATOPHYTIES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX.

A.- DEROULEMENT DE L'INFECTION, ELEMENTS D'HISTO-PATHOLOGIE.

B.- IMMUNITE NATURELLE.

1°) Espèce zoologique de l'hôte

2°) Age, sexe

3°) Spécificité tissulaire

4°) Résistance individuelle

C.- IMMUNITE ACQUISE.

D.- LES FACTEURS DE L'IMMUNITE.

1°) Action des immunodépresseurs

2°) Facteurs humoraux

3°) Facteurs cellulaires

E.- STRUCTURE ANTIGENIQUE.

- I°) Analyse des extraits chimiques du mycélium
- 2°) Analyse des extraits aqueux du mycélium
- 3°) Analyse des parois

PRESENTATION DU TRAVAIL EFFECTUE.

I.- CARACTERES BIOLOGIQUES DES DERMATOPHYTES ET DE *Trichophyton mentagrophytes* EN PARTICULIER.

Les dermatophytes ne constituent pas un taxon, mais représentent un groupe homogène de champignons appartenant à quelques genres de la famille des *Gymnoascaceae* (classe des Ascomycètes). Ils présentent en commun dans les conditions de culture naturelles, qu'elles soient libres ou parasitaires, un développement sur milieu de kératine.

A l'intérieur de ce groupe, il semble que l'on puisse reconnaître une évolution phylogénétique dans le sens de l'adaptation parasitaire. En effet, on y trouve les intermédiaires entre des espèces saprophytes, isolées très exceptionnellement de l'homme et des mammifères, telle : *Trichophyton georgiae* et des espèces parasites, inféodées à un seul hôte, jamais isolées du sol, telle *Trichophyton schoenleinii* ou *Microsporum audouinii*. *Trichophyton mentagrophytes* constitue un moyen terme entre les deux espèces citées précédemment, dans la mesure où il se révèle pathogène pour de nombreux mammifères comme l'homme, le chien, le chat, le cheval... mais il arrive qu'il soit isolé du sol, notamment si celui-ci contient des débris de kératine (terriers par exemple). En outre, il est souvent mis en évidence sur le pelage de petits mammifères sauvages, sans que ceux-ci ne présentent de lésions de teigne.

D'une manière plus générale, les dermatophytes constituent le seul groupe, en mycologie médicale, où l'on puisse mettre en évidence de véritables parasites \*, les autres espèces fongiques pathogènes répondant

---

\* Le parasite authentique est, pour tout ou partie de son cycle évolutif, dépendant de son hôte, chez qui il produit des formes de dissémination. Il constitue, à son profit, avec cet hôte, un complexe instable, mais relativement équilibré; le parasitisme se traduit généralement par des manifestations pathogènes chroniques, compatibles avec une longue survie de l'hôte.

plutôt au qualitatif d'opportunistes.

Parmi les dermatophytes, *Trichophyton mentagrophytes* fait figure d'une espèce n'ayant pas terminé son évolution, ce qui explique l'intensité des réactions souvent observées chez ses hôtes, du moins lorsque certaines de ses variétés sont en cause. C'est ainsi que *Trichophyton mentagrophytes granulorum* ou *Trichophyton mentagrophytes asteroides* seront fréquemment isolées de teignes suppurées de type kériions ou sycosis. Par contre, sa variété *interdigitale* détermine des lésions chroniques des espaces interdigitaux des pieds ou de la voûte plantaire. Très habituellement fort discrètes, ces lésions sont cependant susceptibles occasionnellement, et pour des raisons inconnues, de s'exacerber sur un mode sub-aigu ou aigu, inflammatoire et douloureux.

II.- FACTEURS DE L'IMMUNITE, ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES  
DU SYSTEME IMMUNITAIRE.

Cette revue bibliographique a été réalisée à l'aide des documents suivants dont nous avons tiré les faits les plus marquants en rapport avec notre travail.

BESSIS M., Cellules du sang, normal et pathologique (7).

CEROTTINI J.C. & BRUNER K.T., Cell mediated cytotoxicity, Allograft rejection and tumor immunity (22).

Cours d'Immunologie de l'Institut Pasteur de Paris (85).

Groupe scientifique de l'O.M.S. : Immunité cellulaire et résistance à la réinfection (47).

MACKANESS G.B., 1970, Cellular immunity (67).

NELSON, The macrophages (75).

WEISS L., The cells and tissues of the immune system (107).

A.- FACTEURS DE L'IMMUNITE.

Dans sa lutte contre les agents infectieux, les agents toxiques, les proliférations anarchiques de clones cellulaires, l'organisme dispose de nombreux moyens de défense qui constituent les facteurs de l'immunité. Cette immunité peut être spécifique ou non; dans les deux cas interviennent des facteurs humoraux et/ou cellulaires.

I°) L'immunité non spécifique.

Elle correspond à l'immunité naturelle bien qu'elle puisse en déborder le cadre.

Facteurs humoraux.

Citons par exemple le complément : facteur non spécifique, mais pouvant être impliqué dans des processus spécifiques par l'intermédiaire d'anticorps qui le fixent.

- . le lysozyme,
- . l'interféron.

Facteurs cellulaires.

- . inflammation,
- . phagocytose.

Facteurs métaboliques.

2°) L'immunité spécifique (Tableau I).

Elle correspond à l'immunité acquise. Dans ce cadre, la distinction entre facteurs humoraux et cellulaires est un moyen commode d'aborder l'étude de l'immunologie, mais il s'avère que dans nombre de réponses immunitaires les deux types de facteurs peuvent coopérer étroitement (anticorps cytophiles) ou au contraire être antagonistes (anticorps facilitants).

Facteurs humoraux.

Il s'agit essentiellement des anticorps. Ce sont des globulines plasmatiques dont la production est provoquée par un antigène avec lequel elles peuvent réagir **spécifiquement**

Les anticorps sont synthétisés par les plasmocytes dérivant eux-mêmes de lymphocytes B.

On distingue diverses classes d'immunoglobulines suivant leurs structures et leurs propriétés : IgG, IgM, IgA, IgE, IgD...

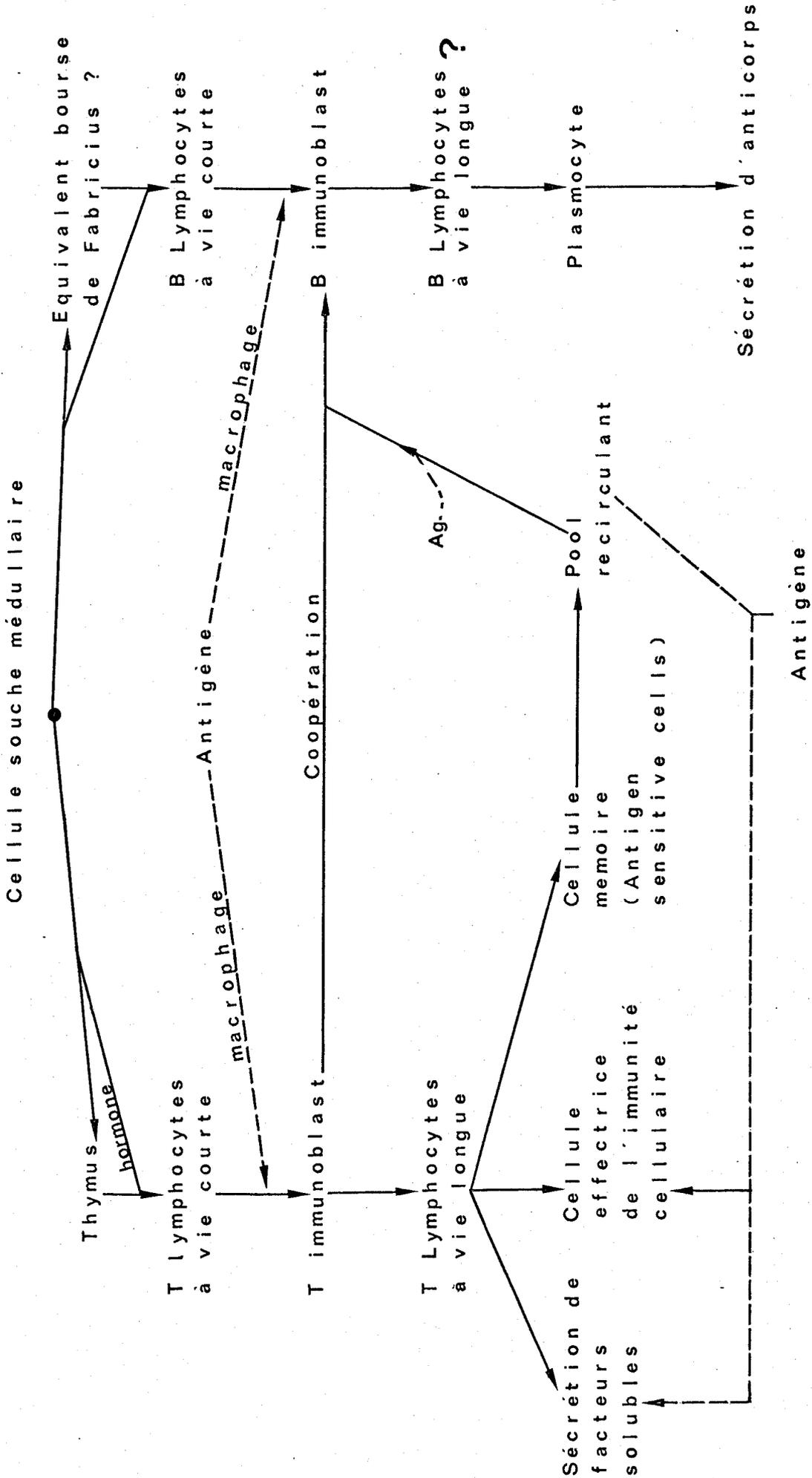
Facteurs cellulaires.

Durant de nombreuses années, la seule manifestation connue en relation avec l'immunité fut la réaction d'hypersensibilité de type retardé (H.S.R.) qui ne présente pas toujours un caractère de protection évident. Cette dernière décennie, la mise en oeuvre de nouvelles techniques de culture de cellules *in vitro* a permis de faire des progrès considérables dans la compréhension de ces phénomènes.

Cette immunité ne peut être transférée que par les cellules et non par le sérum. La réponse est sous la dépendance de lymphocytes T. Il s'agit là de cellules capables, dans un premier temps, de reconnaître des substances étrangères à l'organisme, et qui sont ensuite à même d'initier une réponse immunitaire sans sécrétion d'anticorps.

TABLEAU I

Schéma du mode de développement des réponses immunitaires spécifiques  
(cellulaires et humorales).



BUS  
LILLE

Etant donnée l'orientation de notre travail qui a concerné principalement les aspects cellulaires de l'immunité étudiés, *in vitro* de façon cinétique et *in vivo* à l'aide du microscope électronique, nous nous proposons de résumer ici brièvement les connaissances actuelles concernant les structures et les fonctions des cellules du système immunitaire.

**B. - ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE.**

Nous n'envisagerons dans ce chapitre que les cellules de la lignée lymphoplasmocytaire et monocyto-macrophagique bien qu'il faille souligner que les polynucléaires interviennent dans nombre de réponses immunitaires.

**I°) Lymphocyte.**

Le lymphocyte est la cellule qui constitue la "pierre angulaire" du système immunitaire, elle se situe à l'origine de la production des anticorps, de l'immunité cellulaire et de la tolérance immunitaire.

Les lymphocytes dérivent d'une cellule souche médullaire bien que leur maturation soit vraisemblablement sous l'effet d'hormones diverses. Ils sont présents en grande quantité dans ce qu'il est convenu d'appeler le tissu lymphoïde et sont l'objet d'une recirculation les distribuant dans tous les points de l'organisme.

Durant de nombreuses années, on a pu, à la suite des hématologistes, distinguer les petits lymphocytes (diamètre compris entre 5 et 8  $\mu\text{m}$ ), les moyens lymphocytes (8 à 12  $\mu\text{m}$ ) et les grands lymphocytes (12 à 15  $\mu\text{m}$ ). Comme le montrent des travaux récents, ayant recours à des critères plus fonctionnels, il semble que ces distinctions ne traduiraient qu'une filiation conduisant à une cellule immunologiquement mature qui est le petit lymphocyte.

Un certain nombre d'études ont consisté à suivre dans l'organisme le devenir de cellules lymphocytaires préalablement marquées; elles ont ainsi conduit à différencier les lymphocytes à vie courte (3 à 5 jours) des lymphocytes à vie longue (plusieurs années).

Enfin, des arguments convaincants à l'échelon des populations cellulaires ont conduit à différencier les lymphocytes thymo-dépendants, ou lymphocytes T, impliqués plus spécialement dans l'immunité cellulaire des lymphocytes burso-dépendants, ou lymphocytes B, à l'origine de la production des anticorps.

On ne peut donc que constater à la suite de L. WEISS que "le terme de lymphocyte ne fait que définir une cellule par sa morphologie. Il ne peut apporter d'informations quant aux potentialités de la cellule et ses fonctions".

Néanmoins, une partie de notre travail portant sur les relations entre des études descriptives et la finalité des réactions observées nous allons tenter de clarifier différents aspects morphologiques de la population lymphocytaire en microscopie électronique qui sont liés à une activité fonctionnelle (Tableau II).

#### a) Le lymphoblaste.

C'est la cellule décrite classiquement comme la cellule mère du lymphocyte. Mais, comme nous le verrons par la suite, le lymphocyte mature peut dans certaines conditions repasser par un stade analogue, au moins morphologiquement, au lymphoblaste.

La taille de la cellule varie de 15 à 20 $\mu$ m. Le noyau est souvent clair et présente un gros nucléole, indice d'une synthèse protéique active. Le cytoplasme, assez clair, contenant des ribosomes isolés et peu nombreux, ne présente pas de caractéristiques particulières.

Un appareil de Golgi assez peu développé est situé dans l'aire paranucléaire. De rares vésicules et des lysosomes, ainsi que quelques saccules de réticulum endoplasmique lisse peuvent être observés. La présence de microtubules serait un caractère assez constant. Enfin, la membrane plasmique émet de fins prolongements préluant parfois à l'individualisation de vésicules de pinocytose.

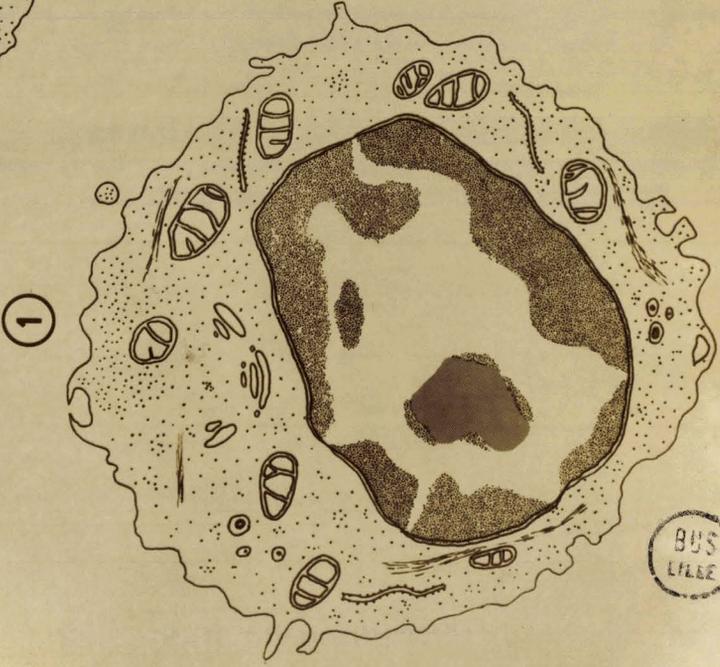
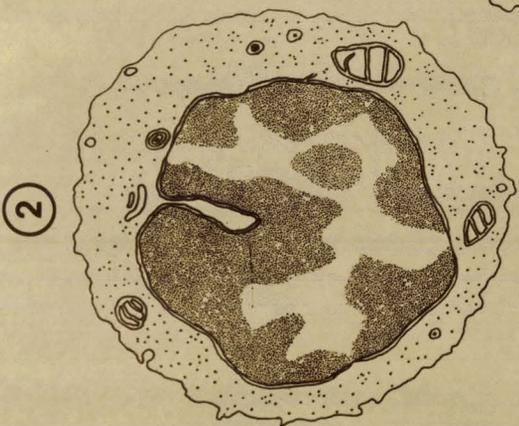
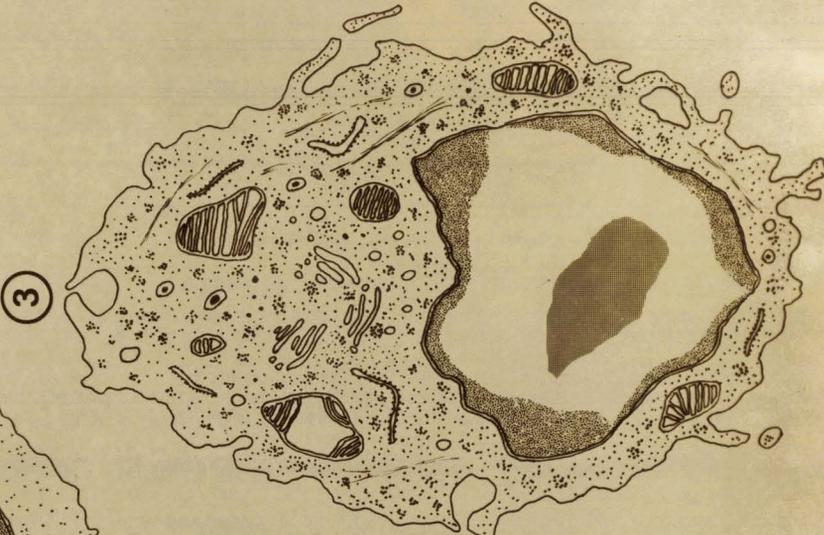
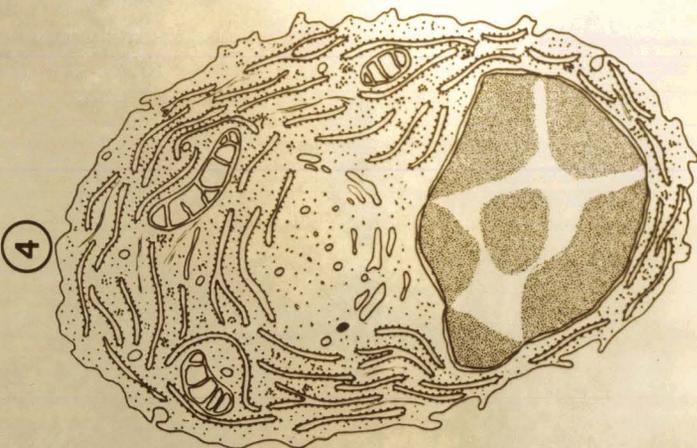
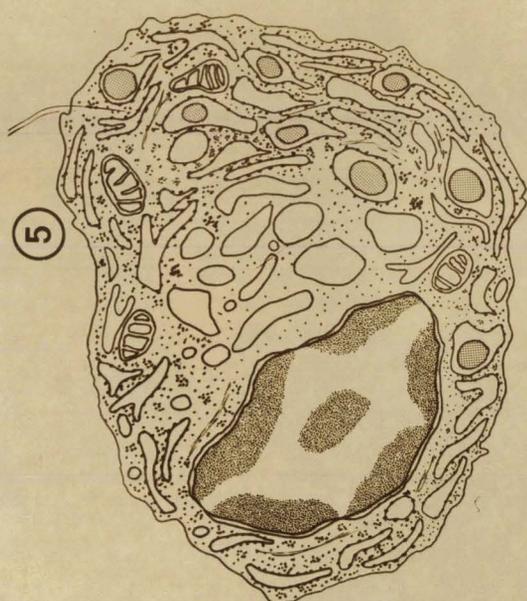
En microscopie électronique, le lymphoblaste présente donc les caractéristiques d'une cellule peu différenciée dont le métabolisme est orienté uniquement vers la synthèse de ses propres constituants.



TABLEAU II

Essai de représentation schématique de l'ultrastructure des cellules de la population lympho-plasmocytaire.

- I.- Lymphoblaste
- 2.- Lymphocyte au repos
- 3.- Lymphocyte activé
- 4.- Plasmocyte jeune
- 5.- Plasmocyte âgé



BUS  
LILLE

### b) Le lymphocyte au repos.

C'est cette cellule qui constitue la majorité de la population de la lignée lymphocytaire d'un organisme en état non pathologique; elle porte également toutes les potentialités du système immunitaire spécifique.

Bien que les lymphocytes soient des cellules aisément identifiables en microscopie électronique, des travaux récents ont montré que, par contre, la différenciation en lymphocytes B et T à l'aide de cette simple technique était extrêmement délicate.

Le rapport nucléoplasmique est très élevé. Le noyau fortement échancré présente une chromatine très dense, le nucléole est très rarement observé. Le cytoplasme annulaire contient un appareil de Golgi fort réduit de rares vésicules, lysosomes et mitochondries. Parfois, à proximité du noyau, sont observés des corps multivésiculaires. Enfin, le plasmalemma est relativement lisse et des invaginations traduisent une activité réduite de micropinocytose.

Il s'agit là de caractéristiques d'une cellule à l'état quiescent.

### c) Le lymphocyte activé.

Nous rapportons ici le résultat d'études effectuées essentiellement *in vitro*. A la suite de leur mise en présence avec des stimulants non spécifiques—phytohématagglutinine, pokeweed-mitogen, streptolysine S, cellules allogéniques—ou d'antigènes auxquels ils ont été préalablement sensibilisés, les lymphocytes deviennent le siège d'une transformation les conduisant à l'état de lymphoblastes, puis de lymphocytes activés.

Il s'agit de grandes cellules hyperbasophiles qui se multiplient. Le lymphocyte complètement transformé se caractérise par une augmentation de sa taille qui peut atteindre 30µm. Le noyau éclairci, légèrement excentré, présente un gros nucléole; l'hétérochromatine est disposée à la périphérie. Le cytoplasme est plus dense aux électrons du fait de la richesse en organites. Les ribosomes sont très nombreux, isolés ou groupés en polysomes formant des rosettes.

L'appareil de Golgi, à proximité du noyau montre des dictyosomes émettant des vésicules dans le cytoplasme, qui contient en outre des lysosomes différenciés.

Des microtubules sont regroupés en faisceaux assez nombreux, quelques saccules ergastoplasmiques sont granuleux. Les mitochondries augmentent de taille et on constate la multiplication du nombre de leurs crêtes.

Enfin, le plasmalemma est très contourné du fait de l'émission de pseudopodes et d'une activité de pinocytose.

Le lymphocyte activé se présente donc comme une cellule assez peu différenciée mais en activité métabolique intense.

Cet état morphologique peut conduire suivant la population lymphocytaire à laquelle on s'adresse à des fonctions très différentes :

- Le lymphocyte B entreprend une transformation qui le conduira à l'état de plasmocyte (voir chapitre suivant).

- Le lymphocyte T

. peut retourner à l'état quiescent, jouant le rôle de mémoire immunologique vis-à-vis de l'antigène avec lequel il aura été en contact; il sera à l'origine, lors des contacts ultérieurs de l'organisme avec ce même antigène, des réponses à caractère anamnétique,

. dans la plupart des cas, il reste sous cette forme de lymphocyte activé et devient alors le support de l'immunité cellulaire.

De très nombreux travaux récents ont montré *in vitro* qu'à ce stade le lymphocyte sécrétait divers médiateurs solubles dénommés "lymphokines" (Tableau III).

## 2°) Le plasmocyte.

Lors de réponses humorales, à la suite d'une coopération entre les cellules T et B, ou directement par contact de l'antigène avec leurs anticorps de membrane, des lymphocytes de type B peuvent subir une transformation les conduisant à l'état de cellule blastique, analogue, au moins morphologiquement, au lymphoblaste décrit précédemment. Cette différenciation provisoire se poursuit par une réorganisation des structures internes, c'est la transformation en plasmoblaste précurseur du plasmocyte dont il ne présente pas tous les caractères.

*In vivo*, cette transformation lymphoplasmocytaire se produit dans la zone médullaire des ganglions, lors d'infections localisées ou dans la pulpe rouge de la rate lors de réponses plus amples de l'organisme.

TABLEAU III

Exemples de facteurs solubles produits par les lymphocytes activés.

NATURE DU MEDIATEUR	ABREVIATION (termi- nologie anglosaxone)	EFFET <i>in vitro</i> : mise en évidence <i>in vivo</i> : hypothèses émises par les auteurs
<u>Concernant les macrophages.</u> Facteur d'inhibition de la germination des macrophages.	M.I.F. (migration Inhibition Factor)	<i>In vitro</i> : inhibe le déplacement de cellules macrophagiques qui migrent normalement lorsqu'elles sont placées dans un milieu adéquat en contact avec une surface permettant leur adhérence. <i>In vivo</i> : provoquerait une rétention des macrophages au lieu d'injection de l'antigène.
Facteur "armant" spécifiquement les macrophages.	S.M.A.F. (Specific Macrophage Arming Factor)	<i>In vitro</i> : rend des macrophages normaux spécifiquement cytotoxiques pour les cellules cibles de la réponse immunitaire.
Facteur chimiotactique	M.C.F. (Macrophage Chemotactic Factor)	<i>In vitro</i> : provoque la migration des macrophages à travers un filtre selon un certain gradient. <i>In vivo</i> : attire les monocytes du sang circulant sur les lieux de la réaction d'H.S.R.
<u>Concernant les lymphocytes.</u> Facteur mitogénique.	M.F. (Mitogenic Factor)	<i>In vitro</i> : provoque la transformation blastique de lymphocytes normaux. <i>In vivo</i> : considéré comme ayant un rôle de recrutement de la population lymphocytaire.
<u>Concernant les cultures de cellules.</u> Lymphotoxines.	L.T. (Lymphotoxines)	<i>In vitro</i> : induit la lyse de nombreux types cellulaires. <i>In vivo</i> : il apparaît extrêmement difficile de définir son action parmi les nombreuses autres causes de cytotoxicité.
<u>Concernant les granulocytes.</u> Facteur chimiotactique.	C.F. (Chemotactic Factor)	<i>In vitro</i> : provoque la migration des leucocytes suivant un certain gradient.
<u>Concernant les tissus.</u> Facteur donnant lieu à des réactions cutanées.	S.R.F. (Skin Reactive Factor)	<i>In vivo</i> : provoque une réaction rapide et spécifique ayant les caractères d'une réaction d'H.S.R. au niveau cutané.
Facteur d'augmentation de la perméabilité vasculaire.	P.I.F. (Permeability Increasing Factor)	<i>In vivo</i> : augmente la perméabilité de la paroi des capillaires au lieu de la réaction, permettant l'extravasation cellulaire.

La taille des plasmocytes est de l'ordre de 15 microns. Le noyau, excentré, présente une disposition de la chromatine caractéristique en grosses mottes périphériques et une motte centrale dite en "roue de char".

Le cytoplasme est, à l'exclusion de l'aire paranucléaire où est situé l'appareil de Golgi, occupé par un réticulum endoplasmique granuleux très développé. Les mitochondries sont disposées entre les saccules ergastoplasmiques. En outre, des ribosomes libres en chaînettes ou en rosettes sont disséminés dans le hyaloplasme.

Les vésicules de micropinocytose, les lysosomes et les microtubules sont assez rares. Le plasmalemma est très peu contourné.

Cette même cellule à un stade plus avancé de maturation, montre un noyau plus clair et des saccules ergastoplasmiques et golgiens distendus contenant des grains de sécrétion denses aux électrons. Dans certains cas, les stades ultimes d'évolution du plasmocyte font intervenir la clasmotose.

L'examen ultrastructural révèle donc que le plasmocyte est une cellule orientée vers la sécrétion, puis l'excrétion de substances qui ont été identifiées comme étant des anticorps.

### 3°) Cellules du système phagocytaire mononucléaire.

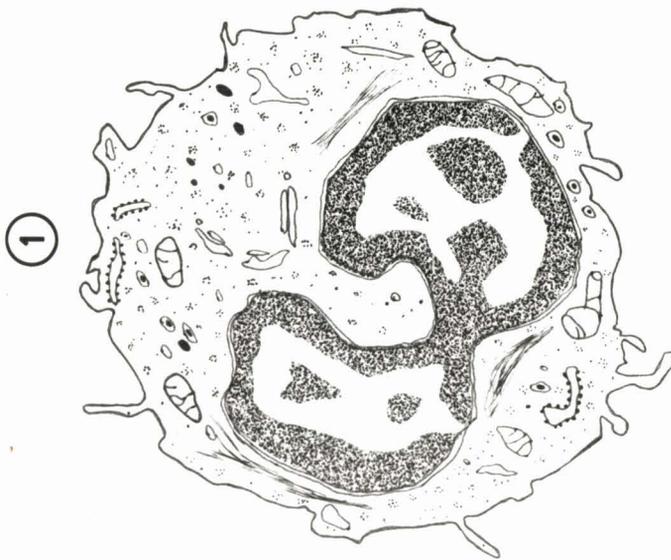
Elles comprennent les monocytes et les macrophages (Tableau IV). Le terme de macrophage appartient au vocabulaire de l'immunologie qui reconnaît en lui, non pas la cellule primordiale de l'immunité qui est le lymphocyte, mais une entité nécessaire, bien souvent, à l'expression d'une réponse immunitaire. Le macrophage intervient par exemple lors de l'initiation d'une réponse immunitaire par captation de l'antigène et sa dégradation sélective. Il intervient souvent dans l'expression même de cette réponse : il apparaît alors comme une véritable "cellule effectrice" de l'immunité.

En fait, ce que les immunologistes ont coutume d'appeler macrophage n'est que le composant le plus actif du système phagocytaire mononucléaire. Ce système englobe les promonocytes de la moelle; les monocytes

TABLEAU IV

Essai de représentation schématique de l'ultrastructure des cellules du système phagocytaire mononucléaire.

- 1.- Monocyte
- 2.- Macrophage
- 3.- Agrégation de cellules épithéloïdes en cellules géantes.



de la moelle, du sang, de la lymphe, des cavités séreuses, des tissus conjonctifs; les macrophages libres ou alternativement libres et fixés. Les macrophages peuvent, de plus, évoluer dans certains cas en cellules épithélioïdes ou cellules géantes.

Il s'agit là d'un système mobilisable aux grandes potentialités qui, à la suite d'activations diverses, peut agir de façon spécifique ou non.

a) Le monocyte.

C'est une cellule circulante, dérivant du promonocyte, cellule souche médullaire. Les monocytes sont doués d'activité phagocytaire et ont la propriété d'adhérer au verre.

Il s'agit de cellules d'environ 15 à 20  $\mu\text{m}$ . de diamètre, comportant un noyau réniforme, souvent dépourvu de nucléole, et qui présente une chromatine finement texturée. Le cytoplasme généralement clair contient : au voisinage de l'échancrure nucléaire un appareil de Golgi assez développé, des ribosomes groupés en polysomes ou répartis sur la face externe de saccules ergastoplasmiques aplatis. On observe en outre des lysosomes en nombre relativement élevé et des mitochondries de petite taille.

La présence de faisceaux de microfilaments répartis de façon concentrique au noyau, semble être un caractère cytologique spécifique du monocyte. Des expansions du plasmalemma préparent fréquemment à l'individualisation de vésicules de pinocytose.

Le monocyte se présente donc comme une cellule peu différenciée, mais présentant des potentialités certaines concernant la captation et la destruction.

Les monocytes circulants possèdent la faculté de pénétrer dans le tissu, par exemple à l'occasion d'un ralentissement de la circulation (capillaires du lobe de l'oreille) ou d'une augmentation de la perméabilité vasculaire (réaction d'H.S.R.). Ils peuvent alors se transformer en macrophages.

b) Le macrophage.

Il s'agit ici d'une cellule essentiellement tissulaire. Les macrophages sont répartis en de nombreux points de l'organisme. Ce sont les

grandes cellules alvéolaires du poumon, les cellules de Kuppfer du foie, les histiocytes du tissu conjonctif, etc...

D'une taille variant de 20 à 40  $\mu\text{m}$ , le macrophage présente, en microscopie électronique, un noyau excentré souvent échancré avec une hétérochromatine dense répartie finement à la périphérie. Dans l'échancrure nucléaire, on observe un appareil de Golgi volumineux et généralement complexe. De nombreux lysosomes primaires sont répartis dans un cytoplasme dense; suivant l'état d'activité de la cellule on peut également observer des lysosomes secondaires. L'ergastoplasme est représenté par un nombre assez important de saccules aplatis. On trouve enfin, de façon constante des filaments intracytoplasmiques, mais leur quantité et leur répartition semble être fonction de l'activité physiologique de la cellule. L'ectoplasme montre de nombreuses villosités et microvillosités individualisant des vésicules de pinocytose et de phagocytose.

Le macrophage se présente donc comme une cellule différenciée, orientée vers la mobilité et présentant un potentiel de captation et de dégradation considérable.

Nous n'aborderons ici que les fonctions du macrophage en rapport avec l'immunité (mise à part la production d'interféron), mais il faut souligner que cette même cellule remplit de nombreux offices : elle intervient dans la détoxification, joue un rôle dans le métabolisme du fer, possède une fonction cytothématique, etc...

Par opposition à d'autres phagocytes que sont les polynucléaires les macrophages sont capables de réaliser une digestion ménagée des particules phagocytées grâce à l'existence d'hydrolases acides dans leurs lysosomes. Cette dégradation sélective serait à l'origine de leur rôle dans la transmission de l'information antigénique. Dans ces conditions, au niveau des "îlots réticulo-lymphocytaires", lors de l'initiation d'une réponse immunitaire, à des antigènes particuliers, les macrophages seraient capables de présenter aux cellules lymphocytaires une sorte de "super antigène" extrêmement immunogène.

Récemment, un grand nombre d'auteurs se sont intéressés au rôle du macrophage dans l'expression de l'immunité cellulaire. Il ressort de ces travaux que, contrairement aux granulocytes qui sont des cellules de fin

de lignée, les macrophages conservent un pouvoir de synthèse considérable et peuvent être stimulés de diverses façons. Selon la conception actuelle, on distingue les macrophages "activés" capables d'une cytotoxicité non spécifique, des macrophages "armés", spécifiquement cytotoxiques pour les seules cellules cibles de la réponse immunitaire.

MACKANESS (67) a montré dans le modèle expérimental *Listeria monocytogenes* - souris que l'intervention des macrophages dans la résistance à l'infection se traduit par deux phénomènes distincts par les mécanismes de leur mise en oeuvre et leur expression :

L'un, en relation avec l'H.S.R., est spécifique et relève de la compétence des lymphocytes,

L'autre résulte d'une activation des macrophages, lorsque la population bactérienne atteint une densité critique et n'est pas spécifique.

Dans un cadre plus large, d'autres auteurs ont montré que des macrophages pouvaient être cytotoxiques envers des cellules cibles spécifiques.

L'acquisition de cette faculté par le macrophage peut se réaliser par deux mécanismes différents et, semble-t-il, exclusifs l'un de l'autre. Il s'agit soit d'un contact direct macrophage-lymphocyte sensibilisé à l'antigène, soit de l'action sur le macrophage de médiateurs solubles produits par des lymphocytes ayant incubé avec l'antigène responsable de leur sensibilisation (S.M.A.F. déjà cité). De nombreux auteurs pensent que la reconnaissance de l'antigène pourrait s'opérer par l'intermédiaire d'anticorps cytophiles (IgG; IgM; IgE?) fixés sur la membrane plasmique du macrophage.

Les macrophages armés, à la suite de leur contact avec les cellules cibles spécifiques sont le siège d'un important remaniement biochimique et ultrastructural. A la suite de ces transformations les macrophages activés deviennent cytotoxiques de manière non spécifique.

Enfin, des macrophages, prélevés chez des animaux infectés de façon chronique et présentant une H.S.R. très développée, montrent souvent les caractères d'une activation et sont cytotoxiques pour nombre de cellules susceptibles.

20

Certains des macrophages ainsi activés entreprennent à l'intérieur des tissus une transformation en cellules épithélioïdes qui peuvent fusionner pour former des cellules géantes, véritables masses syncytiales multinucléées dans lesquelles on assiste à une redistribution de tous les organites.

### III.- IMMUNOLOGIE DES DERMATOPHYTOSES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX.

Il convient de remarquer que les nombreux cas de dermatophytoses décrits et étudiés à ce jour sont extrêmement variés quant aux dermatophytes impliqués, l'espèce animale parasitée et aux manifestations cliniques observées. Il ressort de cette constatation qu'il est très difficile de présenter un tableau synthétique simple et complet de l'immunologie des dermatophytoses; tout au plus peut-on se rapporter à certains modèles expérimentaux qui, par les résultats fragmentaires qu'ils ont permis d'obtenir, ont conduit à l'élaboration d'hypothèses intéressantes.

#### A.- DEROULEMENT DE L'INFECTION; ELEMENTS D'HISTO-PATHOLOGIE.

Les espèces de dermatophytes pathogènes appartiennent essentiellement aux genres *Microsporum*, *Trichophyton* et *Epidermophyton*, ils sont parasites de la peau et des phanères. L'infection naturelle peut se résumer brièvement de la manière suivante :

A partir d'une cellule initiale, le dermatophyte émet des filaments pénétrants à l'intérieur des cellules cornées épidermiques (49,83). Ce premier développement ne semble d'ailleurs pas être une condition *sine qua non* de l'attaque du poil par la suite (56). Dans un deuxième temps, des hyphes pénètrent le follicule pileux, s'évadent du *stratum corneum* et croissent le long du poil. A ce stade, la nourriture du champignon proviendrait des substances présentes dans le canal folliculaire. Ensuite, le mycélium s'insinue entre les écailles de la cuticule, pénètre la tige du poil jusqu'à la limite extrême de la zone kératinisée en progressant vers son bulbe; sa croissance se fait donc en sens inverse de celle du poil. La ligne de jonction des éléments mycéliens apicaux et des structures pileuses non encore kératinisées prend la forme d'un V inversé; c'est la frange d'ADAMSON.

Une première constatation s'impose : lors de l'évolution normale de l'épidermomycose, les éléments parasitaires ne sont jamais en contact avec les cellules vivantes de l'animal. Les termes de kératinophiles, nécrophiles, traduisent cette particularité biologique. D'un point de vue immunologique, il s'agit là d'un modèle particulier dans la mesure où la réponse immunologique, telle qu'on la conçoit habituellement, implique un contact direct avec les médiateurs de cette réponse. En fait, un "contact" existe, même s'il n'a pas lieu avec les éléments figurés parasitaires, mais avec leurs produits d'excrétion-sécrétion, tels les enzymes. Les enzymes dermatophytiques les plus connus sont sans conteste les kératinases à la suite de leur isolement de *T. mentagrophytes*, puis leur caractérisation par YU, HARMON et BLANK en 1969. Comme nous le verrons ultérieurement de nombreux travaux ont été entrepris par l'équipe de F. BLANK à partir de ces enzymes purifiés pour tenter d'en démontrer la participation dans les manifestations pathologiques et immunologiques des dermatophyties.

Dans le cadre de la pathogénicité, on retiendra le travail de RIPPON et BARKER en 1969 (89) : à partir des types parentaux de mêmes espèces (ex.: *A. benhamii* a et A; *Nanizzia fulva* + et -), ils ont pu montrer que la présence de certains enzymes protéolytiques (gélatinase, élastase... était fonction du type parental considéré. Les différences relevées interviennent dans la durée de l'infection réalisée à partir des diverses souches. En effet, plus la réponse de l'hôte est sévère, moins l'infection est de longue durée, et l'antigénicité des enzymes jouerait un rôle prépondérant.

Toujours dans ce même cadre, nous pouvons rapporter notre expérience personnelle concernant le modèle expérimental utilisé lors de ce travail. En effet, nous avons constaté, bien que cela n'ait pas donné lieu à une étude quantitative, que la pathogénicité de la souche s'exacerbait à la suite de passages successifs sur animal. Avec la souche ainsi conservée durant cinq ans, l'infestation des animaux réussit dans 100 % des cas et de nombreuses lésions satellites sont observées en dehors de la zone d'inoculation. Cependant, cette même souche, conservée durant le même laps de temps, dans des conditions les plus proches des conditions naturelles -sur milieu à la terre à 24°C- ne détermine des lésions que dans 50 % des cas et toujours localisées à la zone d'inoculation. Ces derniers résultats sont identiques à ceux que nous avons obtenus au tout début de nos expérimentations. Ils attirent l'attention sur les variations de certaines caractéristiques des souches fongiques dans le temps et en fonction de facteurs écologiques. Il importe évidemment de les maîtriser pour réaliser des travaux reproductifs et comparatifs.

D'un point de vue histopathologique, les teignes suppurées se caractérisent ( 8 , 39 ) :

- au début par une réaction cellulaire confinée à la partie superficielle du derme et autour des follicules pileux. Le contingent cellulaire est formé de lymphocytes et de polynucléaires en nombre égal.
- lorsque l'infection est plus avancée, l'épiderme et la totalité du derme sont impliqués. On trouve dans ce dernier une grande quantité de cellules plasmiques, quelques lymphocytes, de grandes cellules mononucléées et des polynucléaires. L'épiderme est oedémateux et hyperplasique.
- puis l'implication de tout le derme en une réaction granulomateuse avec microabcès qui tendent à coalescer, peut alors former les grands plages de pus observées en clinique.

Dans un travail récent GIP (37) a étudié le rôle de la libération d'histamine dans la pathogénicité des dermatophyties par recherche d'histamine dans le broyat mycélien et le filtrat de culture de *Trichophyton men-*

tagrophytes, *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, puis par action de ces extraits sur des mastocytes péritonéaux de rat. En aucun cas, une libération d'histamine n'a pu être mise en évidence. Mais ceci n'exclut évidemment pas la libération de cette amine hors des réactions antigène-anticorps d'hypersensibilité immédiate.

## B. - IMMUNITÉ NATURELLE.

Elle est fonction d'un certain nombre de facteurs que nous passerons rapidement en revue :

### I°) Espèce zoologique de l'hôte.

La susceptibilité des différentes espèces animales aux infections dermatophytiques est très variable. A l'intérieur d'une même espèce, elle dépend également de l'agent infectieux considéré \*.

- *Trichophyton equinum* par exemple n'infecte que très rarement les hommes en contact avec les animaux parasités, par opposition à *Trichophyton mentagrophytes*.

- *T. schoenleinii* et *T. violaceum* ne s'inoculent que très difficilement au cobaye alors qu'avec *M. canis* l'inoculation est plus aisée et celle de *T. mentagrophytes* facile.

- L'homme est sensible à de nombreuses espèces, mais quelques unes lui sont propres (*T. schoenleinii*, *T. violaceum*, *T. tonsurans*, *M. audouinii*, etc).

---

\* Ce problème dépasse d'ailleurs le cadre de la résistance pour s'intégrer à celui de l'adaptation parasitaire des dermatophytes. A l'intérieur de la famille des *Gymnoascaceae* on trouve en effet tous les intermédiaires entre les espèces géophiles, exceptionnellement isolées de l'homme ou des animaux telle *Ketatinomyces ajelloi*, jusqu'aux espèces parasites authentiques telle *Trichophyton schoenleinii*, jamais isolée du sol et inféodée à la seule espèce humaine.

- Par contre, les rats et souris sont très difficilement inoculables expérimentalement par les dermatophytes. KLIGMAN (57) rattache cette observation au fait que les animaux de laboratoire se trouvent dans des conditions de nutrition nettement meilleures que leurs homologues sauvages chez lesquels l'existence du "Favus" a été souvent rapportée. D'autre part, ces animaux subissent une évolution cyclique synchrone de leurs follicules pileux, alors que cette évolution est anarchique pour l'homme et le cobaye, chez lesquels chaque follicule possède un cycle indépendant des follicules voisins. Selon les travaux de KLIGMAN, les souris ne seraient réceptives que durant une très courte période entre le 12<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour du stade anagénique et complètement résistantes en dehors de cette période. La kératine du *stratum corneum* au stade télogène interdirait tout développement fongique.

## 2°) Age, sexe.

L'influence de l'âge dans l'évolution des teignes est classiquement affirmée : les teignes microsporiques et trichophytiques guérissent spontanément à la puberté ou dans les années qui suivent. ROTHMAN, en 1947 (90), a montré que la puberté s'accompagnait d'un changement de concentration en acides gras des sécrétions sébacées. Ces acides gras, isolés spécifiquement du cuir chevelu de l'adulte contiennent un nombre impair d'atomes de carbone et possèdent une activité fongicide et fongistatique sur *Microsporum audouinii* cultivé *in vitro*. D'autres études ont concerné la peau glabre. HELLGREN, en 1972 (48), en étudiant *in vitro* l'activité fongistatique des sécrétions sébacées d'adultes sur 5 espèces de dermatophytes a montré :

- que l'activité antifongique était plus prononcée chez la femme que chez l'homme.

- qu'elle était accrue en présence d'antioxydants. Cette dernière observation est en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'incidence de ce phénomène *in vivo* serait réduite, par suite de l'inactivation des lipides de la surface épidermique au contact de l'air.

En dépit de ces divers travaux, il convient d'insister sur le fait qu'au moins chez l'homme et tout spécialement quand il s'agit des trichophyties, l'immunité de l'adulte a été très exagérée. Certaines statistiques font état de 10 % d'infestations chez les adultes qui sont d'ailleurs curieusement presque toujours des femmes (100).

### 3°) Spécificité tissulaire.

La simple pratique courante du diagnostic mycologique conduit à remarquer certaines manifestations de cette spécificité, à savoir :

- tous agents des teignes du cuir chevelu et de la peau respectent les poils pubiens et axillaires de l'homme.
- *Trichophyton rubrum* n'attaque pratiquement jamais le poil.
- *Epidermophyton floccosum* ne s'attaque qu'à la peau glabre.

MAESTRONE (68) a rapporté des observations du même ordre chez l'animal. En effet, les lésions chez le cobaye infecté expérimentalement par *Trichophyton mentagrophytes* et *Microsporum canis* évoluent différemment suivant leur localisation. Si le site d'inoculation est crânial, les lésions, les manifestations anatomo-pathologiques et la colonisation parasitaire sont moindres que lors d'une infestation au niveau caudal.

Dans ce même chapitre, envisageons maintenant le fait que durant leur développement parasitaire, les dermatophytes restent cantonnés aux structures kératinisées de l'hôte qui constituent *a priori* un milieu peu favorable.

Notons cependant que cette apparente spécificité pour la kératine présente des rares exceptions. Telles la généralisation rarissime de Favus, de la trichophytie à *Trichophyton violaceum* ou la formation de granulomes dermiques cités de plus en plus fréquemment dans la littérature (63,6).

En fait, n'importe quel tissu se prête à la culture *in vitro* des dermatophytes, mais pratiquement jamais si ce tissu est conservé *in vivo*. Ces observations sont à rattacher à l'existence de facteurs sériques préexistants à l'infection :

Une série de travaux datant de 1950 a prouvé l'existence d'un tel facteur possédant une activité fongistatique (13, 66).

LORINCZ (66) a montré qu'un inoculum de *Trichophyton mentagrophytes*, placé dans une chambre à diffusion mise dans le péritoine d'une souris ou dans du sérum humain frais, ne montrait aucun développement même après 5 semaines. Selon cet auteur un facteur fongistatique humoral, dialysable, mais également très fragile (nécessité au cours de l'expérimentation de changer le sérum tous les jours) est responsable de cette inhibition de croissance.

Plus démonstrative encore fut l'expérimentation de BLANK en 1959 (13) : des fragments de peau étaient maintenus en culture sur milieu de HANKS enrichi de glucose. Un inoculum fongique placé sur la surface envahissait rapidement, non seulement les couches kératinisées mais l'ensemble épiderme-derme. L'adjonction de sérum au milieu de culture inhibait ce développement en profondeur, le mycélium ne subsistant qu'au niveau du *stratum corneum*.

Ces deux types d'expérimentation expliquent donc pourquoi les dermatophytes, capables de vivre par ailleurs dans des conditions très différentes de pH, de température, d'oxygénation, se cantonneraient à la peau et aux phanères en restant localisés au niveau des zones kératinisées qui constituent, *a priori*, un milieu de culture peu favorable.

Dans ce même cadre, bien que l'expérience revête un caractère plus fragmentaire, YU (116) a montré que les kératinases de *T. mentagrophytes* étaient inhibées par un facteur présent dans le sérum de l'homme sain et situé dans la fraction  $\alpha_2$  macroglobulinémique. GRAPPEL (46) rapporte l'existence d'un facteur semblable chez le cobaye sain; par contre, lorsque ce même animal est immunisé expérimental<sup>ement</sup> vis-à-vis de kératinases, il s'y ajoute un inhibiteur cette fois spécifique et situé dans la fraction  $\delta$  globulinémique.

#### 4°) Résistance individuelle.

Habituellement, les "épidémies" de dermatophytoses ne sont pas étendues et n'affectent qu'une faible partie d'une population donnée :

- les teignes microsporiques dans les écoles ne touchent, sauf exception, que quelques enfants.

- les épidémies de teignes bovines à *T. verrucosum*, au sein d'un troupeau, n'atteignent qu'une faible proportion de veaux et très peu d'adultes.

- selon l'expérience de S. ANDRIEU, au sein d'un élevage de chinchillas : trois individus sur 50 étaient parasités, alors que tous se révélaient porteurs de spores de *T. mentagrophytes* (méthode de la moquette).

- les rongeurs sauvages examinés par la même méthode, se révèlent très souvent "porteurs sains" de dermatophytes.

En fait, on ne peut encore que constater ces états de réceptivité ou de résistance naturelle, sans pouvoir prouver aucune des hypothèses avancées jusqu'ici pour les expliquer.

#### C.- IMMUNITÉ ACQUISE.

Un organisme qui a été contaminé une première fois par un dermatophyte présente vis-à-vis de la même espèce un certain degré de résistance qui varie dans le temps et en intensité suivant le cas. Certaines fois, l'immunité concerne également d'autres espèces dermatophytiques : cette protection croisée est démontrée chez l'animal; elle a été observée chez l'homme, mais pour certaines espèces seulement.

Ni les tondantes infantiles, ni le favus, ni l'herpes circiné, ni l'eczéma marginé ne semblent conférer d'état réfractaire; par contre, les espèces zoophiles provoquant des kériions (formes suppuratives expulsives) protègent souvent l'homme contre la même espèce ou contre toute autre espèce pyogène. Cependant, il faut remarquer qu'au cours de la teigne bovine, *T. verrucosum* ne protège que peu ou pas contre une recontamination ultérieure, bien qu'il provoque une teigne suppurative.

Chez l'animal d'expérience (cobaye) BLOCH a pu montrer au début du siècle que l'inoculation d'un dermatophyte fortement pyogène tel *T. mentagrophytes* ou *T. quinckaneum* protège l'animal contre la réinoculation de toute autre espèce de dermatophytes (15). Il n'en va pas de même si le dermatophyte inoculé est une espèce non pyogène comme *T. tonsurans* ou *M. audouini*.

L'état d'immunité chez l'animal se traduit de la façon suivante

- Une première inoculation (*T. mentagrophytes*), pratiquée sur le flanc tondu d'un cobaye, entraîne l'apparition après 5 à 6 jours de latence, de lésions furfuracées; en bordure des lésions oedémateuses apparaissent; l'exsudation et la desquamation provoquent la formation d'une croûte agglutinant les poils. Ces poils sont intensément parasités ainsi que les squames constituant la croûte. La lésion est à son maximum le IIème jour. Le grattage laisse une surface épidermique décapée et glabre, rouge, épaisse; le duvet de repousse du poil n'apparaîtra que plus tard.

- Si on pratique alors sur l'autre flanc une nouvelle inoculation le processus sera différent : l'inflammation apparaîtra en I à 2 jours seulement; l'exsudation et la desquamation surviennent vers le 3ème jour; l'excoriation par grattage et la guérison surviendront avant le 7ème jour. Si la seconde inoculation a lieu sur l'emplacement de la première, le phénomène est plus accentué encore et la guérison survient en 3 jours. Le dermatophyte n'est, dans ce cas, jamais isolé des lésions, tandis que lors de la réinfection contralatérale, on le retrouve chez 50 % des animaux.

Tout ce processus est schématisé et son déroulement dépend de l'individu et <sup>de</sup> la souche fongique. Tous les états intermédiaires existent entre le phénomène typique et l'absence du phénomène de B. BLOCH. Mais d'une manière générale, comme chez l'homme, l'intensité de la défense de l'hôte conditionne l'immunité et la protection est d'autant moins large et solide que la primo-infestation était moins inflammatoire.

Selon KLIGMAN (57) cependant, cet état d'immunité n'existe pas chez la souris et l'évolution de l'infection secondaire est rigoureusement semblable à celle de l'infection primaire, quelle que soit l'espèce de dermatophyte utilisée.

De nombreux essais ont été opérés pour reproduire l'état de résistance sans l'intervention du développement mycélien dans les phanères. KEENEY (54) à l'aide d'une vaccine a réussi à conférer un état de résistance plus ou moins totale à quelques animaux qui disparaît cependant si la réinoculation a lieu un mois après l'arrêt du traitement. WHARTON (110) a abouti à l'instauration d'une immunité complète chez le lapin par injection d'extraits de *T. purpureum* avec adjuvants.

## D.- LES FACTEURS DE L'IMMUNITE.

### 1°) Action des immunodépresseurs.

Ces produits, de plus en plus employés dans l'étude des infections expérimentales, ne permettent pas à l'heure actuelle de déprimer spécifiquement l'immunité humorale ou l'immunité cellulaire comme on aurait pu l'envisager (encore que les travaux les plus récents tendent à prouver que ces deux types de réponse sont très souvent étroitement liés dans les affections parasitaires).

On peut relever cependant dans la littérature de nombreux cas de patients soumis à une corticothérapie de longue durée révélant une grande sensibilité aux dermatophytes. De nombreux auteurs se sont attachés à l'étude expérimentale de ce problème. FISHER (32) a montré que les corticostéroïdes n'affectaient pas l'activité fongistatique du sérum et que (33) la virulence d'une souche n'était pas exacerbée par suite de son passage sur un animal traité.

En fait, il semble que le résultat soit étroitement lié au type de corticoïde utilisé. REISS et CAROLINE (87) ont montré que le cobaye infecté par *T. quinckanum* traité par la cortisone présentait une évolution sensiblement normale de la trichophytie et que les réactions d'hypersensibilité tant de type immédiat que de type retardé n'étaient pas altérées.

Plus précisément, GOSS (38) en utilisant un échantillonnage important de corticoïdes a observé que la cortisone, l'hydrocortisone et la prednisolone n'ont aucun effet, même aux doses maximales, chez le cobaye infecté par *T. mentagrophytes* ou *M. canis*; par contre, la triamcinolone acétonide à 30 mg/j/kg et la dexaméthasone à 100 mg/j/kg entraînaient des lésions plus étendues ainsi que des lésions satellites. MAESTRONE (68) a réalisé une étude anatomopathologique dans ce dernier cas. Il a pu montrer que la prolifération fongique, l'hyperkératose, la destruction des follicules pileux étaient plus intense que chez les animaux témoins, mais que par contre l'infiltration cellulaire ne présentait pas la même acuité. La guérison spontanée ne survient pas, la réponse inflammatoire est inhibée. Malheureusement, ces auteurs n'ont pas étudié de façon concomitante l'état d'hypersensibilité retardée et immédiate.

Notons enfin, dans ce cadre, que la griséofulvine présente un effet immunosuppresseur. Il s'agit d'un antibiotique spécifique des dermatophytes, fongistatique, et qui a la particularité, administré par voie générale, de se concentrer au niveau de la peau et des phanères. L'immunosuppression se manifeste par la réduction des foyers inflammatoires et des réactions d'H.S.R. à divers antigènes. Selon MOLIN (74), cependant, administrée à des doses thérapeutiques chez l'homme et durant des périodes n'excédant pas 6 mois, la griséofulvine n'entraîne pas de diminution notable des réactions immunitaires.

## 2°) Facteurs humoraux.

Les études concernant les anticorps apparaissant au cours des dermatophyties naturelles et expérimentales sont nombreuses. Elles ont bénéficié des techniques les plus récentes de purification d'antigènes et de tests immunologiques *in vitro*. Mais les anticorps ne sont mis en évidence qu'assez rarement et de façon inconstante.

Chez l'homme, PEPYS et coll. (81) ont montré la présence de précipitines réagissant avec des extraits de *T. mentagrophytes* et de *T. rubrum* dans le sérum de patients atteints d'infection à *T. rubrum*, ainsi que d'ailleurs des réactions croisées de l'antigène total *T. mentagrophytes* avec des anticorps anti-*Cladosporium herbarum* et *Penicillium notatum*.

Dans un travail concernant de nombreux cas (44) la recherche d'anticorps, essentiellement anti-polysaccharides, par réaction de fixation du complément, agglutination passive de particules de charbon de bois et précipitation en gel, a été effectuée chez des enfants et des adultes atteints de différentes formes de dermatophytoses. L'agglutination du charbon sensibilisé (charcoal agglutination) paraît être la technique la plus sensible pour détecter les réactions sérologiques. Le pourcentage de réactions croisées le plus faible apparaît avec *T. rubrum* (extrait salin); il n'est pas douteux qu'il soit très élevé dans la plupart des autres cas. Enfin, l'auteur insiste sur l'importance du stade de la mycose auquel le sérum est prélevé, les anticorps ne persistant que durant une courte période.

Cependant, ce même auteur a échoué chez le cobaye expérimentalement infesté à démontrer l'existence d'anticorps anti-kératinases par précipitation en gel, fixation du complément, inhibition de l'activité enzymatique. Plus récemment, COLLINS (24) aurait détecté chez ces animaux, par immunofluorescence indirecte, des anticorps anti-kératinases, localisés uniquement au lieu d'infection dans la gaine épithéliale externe des follicules pileux. Il s'agirait là d'anticorps à haute affinité tissulaire, mais il faut bien remarquer que la démonstration de cet auteur est peu convaincante. En effet, la technique d'immunofluorescence indirecte utilisée pourrait traduire une fixation élective de l'enzyme sur son substrat modifié par l'infection et non pas sur des anticorps éventuellement présents.

Chez le lapin infecté par *T. verrucosum*, COX (25) a détecté des anticorps précipitants et fixant le complément dans des conditions, certes peu proches des conditions naturelles. L'infection évolue souvent sous une forme chronique, mais les résultats sont très voisins de ceux publiés par TOMASU (1961) en utilisant *T. mentagrophytes*. La résistance obtenue à l'issue de l'infection s'étend d'ailleurs à cette autre espèce. Néanmoins, d'après ces travaux, il n'existerait pas de relation entre le taux des anticorps circulants et la résistance à la réinfection.

Le fait que le même animal parasité par *T. rubrum* devienne réceptif, suivant WHARTON (110), à une nouvelle infestation lorsque le taux des anticorps baisse, ne s'inscrit pas en faux contre les conclusions des travaux précédents: il est vraisemblable, en effet, que l'ensemble des réactions immunologiques suit une courbe d'évolution qui ressemble à celle des anticorps sériques. Dans un domaine voisin, PECK (80) a mis en évidence l'existence d'anticorps intercellulaires chez un patient atteint d'une infection à *T. rubrum*; le titre de ces anticorps en immunofluorescence et en réaction de fixation du complément diminue sensiblement après la guérison. Mais il s'agit d'anticorps réagissant avec les composants intercellulaires (auto-anticorps). Il est cependant remarquable qu'une absorption avec l'antigène *Trichophyton* élimine tous les anticorps fluorescents du sérum alors qu'elle n'élimine pas les auto-anticorps mis en évidence dans le *Pemphigus vulgaris*. Les deux réactions sont donc de spécificité différente bien que réagissant toutes deux avec les composants intercellulaires.

Bien que les réactions d'hypersensibilité retardée soient généralement les seules qui existent dans les dermatophyties, des réactions de type I ont été décrites notamment lors des infections à *T. rubrum*. Le transfert passif de cette réaction (PAUSNITZ-KUSTNER) a d'ailleurs été réalisé dès 1937 par MARCUSSEN (69). Néanmoins, beaucoup d'auteurs considèrent cette réaction comme non spécifique (63).

### 3°) Facteurs cellulaires.

L'apparition d'une réaction d'hypersensibilité retardée à la trichophytine chez l'homme présentant une dermatophytie est sans doute l'aspect le plus connu de l'immunologie de ces mycoses. Découverte par BLOCH en 1909 (15), sa valeur diagnostique est incontestable, mais la variabilité des résultats en intensité est fonction du degré de pathogénicité du germe primo-infestant et de la réceptivité propre du sujet \*.

D'un point de vue expérimental, un grand nombre de travaux ont porté sur les rapports existant entre l'état d'hypersensibilité retardée et la résistance à la réinfection, étant donné la parenté évidente entre le phénomène décrit par B. BLOCH et celui décrit par KOCH lors de l'infection tuberculeuse.

Les travaux les plus complets sur ce sujet sont encore sans doute ceux de DE LAMATER en 1942 (29, 30) qui a montré chez le cobaye infecté par *T. mentagrophytes* :

- que la guérison s'accompagnait du développement d'I.D.R. positive à la trichophytine,
- que l'intensité de la réaction d'H.S.R. ainsi détectée décroissait dans le temps parallèlement à la résistance à la réinfection,
- que la réinoculation s'accompagnait d'une augmentation concomitante de la réponse cellulaire.

Selon CRUICKSHANK (26), l'état de résistance peut être transmis à un animal sain par transfert des cellules d'un animal sensibili-

---

\* Cette résistance est souvent nulle dans le favus alors qu'elle est démonstrative pour un kériion dû à un Trichophyton microïde, par exemple.

Nous avons déjà abordé antérieurement le problème de la résistance des rats et des souris. Pour KLIGMAN (57), lorsque ces animaux se montrent susceptibles à une infection dermatophytique, son évolution ne s'accompagne pas de l'apparition d'une I.D.R. positive à la trichophytine, et le développement de l'infection secondaire serait exactement semblable à celui de l'infection primaire.

Les travaux de GRAPPEL (46) ont montré que des cobayes infectés par *T. mentagrophytes* présentaient une I.D.R. positive aux kératinases I et II de *T. mentagrophytes* inactivées par la chaleur; l'intensité des réactions étant supérieure à celle obtenue avec une quantité cent fois plus importante de trichophytine. Cette réaction s'avère donc très sensible. Pour l'auteur, les kératinases produites durant l'infection joueraient un rôle, non seulement dans l'invasion des téguments, mais également dans les réactions d'hypersensibilité associées aux dermatophyties.

Il semble que l'on puisse inclure dans ce chapitre des facteurs cellulaires les dermatophytides, ou lésions en "ides", bien que leur mécanisme exact soit encore mal connu. Elles constituent vraisemblablement un aspect fâcheux des réactions cellulaires de l'organisme à l'invasion fongique. Ce sont des lésions stériles, généralement symétriques, siégeant au niveau des mains ou des pieds, en relation avec l'existence d'un foyer d'infection primaire aigu ou chronique créé à distance par un dermatophyte. Elles sont parfois exacerbées par une injection intradermique de trichophytine et disparaissent lorsque le foyer primaire est résolu. WOOD (113) a montré que ce type de lésion était en relation avec des réactions d'H.S.R. à la trichophytine se développant tardivement en 5 à 7 jours, donc beaucoup plus tardivement que les réactions d'H.S.R. classiques, qui atteignent leur maximum en 48 heures.

#### E. - STRUCTURE ANTIGENIQUE.

Jusqu'à présent, nous avons pu mentionner l'action de la trichophytine ou d'extraits somatiques de dermatophytes. Il convient maintenant de préciser ce que l'on connaît de leur composition chimique.

Par trichophytine, on entend généralement : filtrat d'une culture âgée d'au moins 3 semaines, en milieu liquide, après broyage de la masse mycélienne; c'est donc un antigène brut et très impur. Son fractionnement et son analyse chimique fine ne pourraient être que malaisés. Cependant, dès 1925, BLOCH (16) a montré que le composant le plus actif d'un point de vue antigénique était un complexe polysaccharidique contenant de l'azote. Assez rapidement, les auteurs ont essayé de travailler avec des extraits plus purs, mais on peut regretter qu'ils aient parfois conservé le terme de trichophytine ( 3 , 51 ), créant ainsi une ambiguïté alors que, le plus souvent, ils travaillaient avec des extraits somatiques. Parmi les très nombreux travaux qui se sont succédés concernant l'analyse des fractions somatiques, on peut schématiquement distinguer deux voies de recherches différentes, celle s'adressant à des extractions chimiques du mycélium et celle faisant intervenir des extractions aqueuses. Nous envisagerons ensuite les résultats obtenus par l'analyse plus spécifique des parois.

#### I°) Analyse des extraits chimiques du mycélium.

Ces travaux sont surtout le fait de l'école britannique BARKER, en 1960, prépare une "trichophytine" purifiée de *T. mentagrophytes*, à partir d'un extrait mycélien obtenu à l'éthylène-glycol, fractionné par la méthode "cétavlon-borate". Cette fraction isolée déclenche des réactions de type immédiat (hyper I) et retardé (hyper IV) chez le cobaye sensibilisé. Des études ultérieures ont révélé que ce produit purifié était un galactomannane-peptide (10 à 12 % de protéine) ( 3 ). La dégradation de la fraction sucrée entraîne une grande réduction dans la capacité du produit à mettre en évidence l'hyper I, chez l'animal sensibilisé. La dégradation de la fraction peptidique entraîne la disparition de l'hyper IV.

Par la suite, BASARAB<sup>(4)</sup> a montré qu'une grande variété de micromycètes, tant pathogènes que saprophytes, contenait des structures allergéniques analogues. Plus récemment HOW (50), en continuant les travaux de cette équipe, avec des procédés de fractionnement en colonne Bio-Gel,

moins drastiques, a isolé une variété nouvelle de glucannes de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* et *M. canis*. Ces structures ne provoquent que des réactions d'hyper I chez les animaux sensibilisés (sauf pour l'extrait de *T. rubrum* dont HOW évoque qu'il pourrait encore contenir une très faible fraction protéique).

Enfin, l'auteur insiste sur la similitude antigénique des glucannes de *T. rubrum* et *M. canis* qui sont, par contre, différents de ceux de *T. mentagrophytes*.

## 2°) Analyse des extraits aqueux du mycélium.

Précisons d'abord que les extraits de dermatophytes renferment une substance C, susceptible de produire avec la C réactive protéine du sérum (bêta globuline) une réaction de précipitation de nature non immunologique (65).

La structure antigénique globale des fractions solubles dans l'eau ou les solutions légèrement salées, a été étudiée par les techniques de précipitation en gélose<sup>(1)</sup> 17 extraits de dermatophytes analysés ont montré d'importantes parentés antigéniques entre la plupart des espèces considérées. Malheureusement, tous ces extraits ne se prêtaient pas également à l'analyse par la technique utilisée : 10 antigènes seulement furent objectivés par exemple chez *T. verrucosum*; assez souvent, plus de fractions furent révélées par un sérum hétérologue que par le sérum homologue (*T. gourvilii*: 13 fractions par le sérum homologue, 15 par un anti-sérum *T. violaceum* et 16 par un anti *T. soudanense*). De façon étonnante, la technique utilisée n'a pas permis de trouver des différences notables entre des espèces présentant des morphologies, des caractères culturels et des degrés d'adaptation parasitaire différents. Ainsi *T. mentagrophytes* a présenté une réactivité très parallèle à celle de *T. schoenleinii* ou *E. floccosum*.

Il n'y a pas eu de caractérisation enzymatique sur immunoelectrophorogramme pour ce matériel.

En dehors de ce travail, la plupart des recherches sur les fractions solubles dans l'eau ont été réalisées par l'école américaine

(BLANK, BISHOP, GRAPPEL). Le procédé technique fait intervenir une extraction à l'eau chaude, puis à la soude à 3 %, également à chaud, après incubation prolongée à la trypsine. Ainsi, en 1969, les travaux de GRAPPEL et coll. (42) portèrent sur 9 dermatophytes (*M. praecox*, *T. ferrugineum*, *T. interdigitalis*, *T. mentagrophytes*, *T. quinckaenum*, *T. rubrum*, *T. sabouraudii*, *T. tonsurans*, *T. schoenleinii*).

Des glucannes et des galactomannanes de type I et II furent systématiquement isolés (soit respectivement GM I et GM II pour les galactomannanes). Ces substances ont cependant été étudiées, sous l'angle immunologique, avec des immunosérums de lapins préparés à partir des dermatophytes (suspension de mycélium desséché et broyé). Leur réactivité sérologique a été testée par des réactions de fixation du complément et de précipitation en gélose.

Les auteurs ont constaté :

- a) que la réactivité des 3 polysaccharides variait toujours suivant les espèces,
- b) que les glucannes sont les moins réactifs, mais montrent souvent de grandes différences de réactivité,
- c) que les GM I sont les plus antigéniques et les plus étroitement apparentés : ils produisent des réactions croisées importantes avec les anti-sérums homologues et hétérologues.
- d) que les GM II sont moins antigéniques que les précédents mais plus spécifiques.

Les différences de réactivité des GM I et GM II s'expliquent sans doute par leur différence de structure chimique :

Les GM I possèdent des chaînes linéaires de mannanes constituées exclusivement de I-6 D mannopyranose. Cette monotonie de structure serait responsable de l'importance des réactions croisées qui les concernent.

Les GM II ont des chaînes linéaires plus variables (I-2 D et I-6 D mannopyranose dans 5 espèces et seulement I-2 D mannopyranose dans 4 espèces).

La spécificité partielle plus considérable de ces polysaccharides correspond sans doute aux variations de structure de leurs chaînes de mannanes. Quant aux glucannes, leurs variations de structure sont trop importantes pour préciser celles qui sont responsables des réactions croisées.

Pour SAFERSTEIN (92) les polyosides isolés ne seraient capables de provoquer ni l'hyper I ni l'hyper IV, ni même de les révéler chez des animaux sensibilisés par des injections cutanées de *T. quinckae-num* ou *T. mentagrophytes*.

Par contre (44,45), GRAPPEL a montré que l'extrait salin total peut révéler l'existence, certes de façon inconstante, d'anticorps circulants lors d'infections naturelles en fixation du complément ou en agglutination de particules de charbon de bois. En outre, par cette dernière méthode, des anticorps anti-mannannes, glucannes, galactomannannes II sont souvent révélés. Il s'agit là de résultats prometteurs quand on connaît la difficulté de mise en évidence des anticorps dans les dermatophyties. Cet auteur a même montré la réactivité de certains sérums vis-à-vis d'un polymannanne synthétique (43).

### 3°) Analyse des parois.

L'étude de la réactivité immunologique non spécifique des parois des dermatophytes a permis de montrer qu'elle pourrait inactiver le composant C<sub>3</sub> du complément, à la manière du zymosan (91). A notre connaissance, aucune autre étude immunologique n'a porté sur les structures pariétales. Par contre, leur composition chimique a été bien étudiée. Ainsi, dès 1953, BLANK a rapporté chez 15 espèces de dermatophytes la présence de chitine dans les parois, mais l'auteur croyait qu'il s'agissait là d'un constituant exclusif. Cette interprétation s'est trouvée infirmée par les résultats parus ultérieurement et notamment ceux récents et très complets des auteurs japonais (55,76)

NOGUCHI, après avoir désintégré le mycélium de *T. mentagrophytes*, a séparé les parois en gradient de sucrose puis les a purifiées par digestions enzymatiques. Les analyses chimiques réalisées sur ce matériel ont montré que les parois contenaient 36,2 % de glucose, 30,4 % de glucosamine, 11,7 % de mannose, 7,8 % de peptides et 6,6 % de lipides. Les études analytiques sur chacune des fractions non polysaccharidiques furent assez poussées (76); KITAZIMA a continué ce travail en étudiant plus spécifiquement les hydrates de carbone. Chaque fraction obtenue par digestion acide ou alcaline a été étudiée en chromatographie en phase gazeuse, spectrophotométrie d'infra rouge, diffraction aux rayons X; les résidus quant à eux ont été observés au microscope électronique à transmission, après ombrage (55).

Il a ainsi pu montrer que : le matériel alcalo<sup>in</sup>-soluble est un hétéro-polysaccharide composé de galactomannanes à liaisons (I-2) et I-6) et de bêta-glucannes, à liaisons (I-3) et (I-6). Le matériel acido-soluble est un hétéropolysaccharide (mannose et glucose dans la proportion respective de 1/1,4) composé de longues microfibrilles incluses dans les matériaux cités précédemment. A l'extérieur de cette première couche se trouvent des microfibrilles de chitine. Des peptides furent trouvés, associés aux polysaccharides dans des proportions variables. Un glucanne composé de liaisons bêta-I-3 et de quelques liaisons bêta-I-6 fut également isolé mais sa localisation n'a pu être précisée.

Malheureusement, l'immunogénicité des nombreux constituants pariétaux isolés par ces auteurs n'a pas été étudiée. Inversement, dans la voie suivie par les auteurs ayant recherché l'antigénicité d'extraits somatiques, glycopeptidiques ou polysaccharidiques, la localisation cytologique de ces produits n'est pas connue. On peut donc regretter qu'il n'y ait pas de liaisons entre ces deux types de travaux, car il s'agirait là d'informations précieuses sur les rapports hôte-parasite; on pourrait en effet ainsi connaître les mécanismes préjudant à une information antigénique dans les conditions naturelles de l'infection.

En dépit des travaux réalisés jusqu'ici, il reste encore beaucoup à apprendre sur la structure antigénique des dermatophytes, notamment celle des parois. La recherche d'éventuelles fractions vaccinales est à peine ébauchée (54). Enfin, rien de ce qui a été fait, ne permet de comprendre les différences d'adaptation hôte-parasite qui existent entre des espèces de comportement aussi différent que *Trichophyton schoenleinii* ou *Microsporum gypseum* par exemple.

De nombreux travaux ont donc concerné la résistance aux dermatophyties depuis sa mise en évidence par B. BLOCH en 1908. Les plus anciens ont démontré le parallélisme très net existant entre la résistance d'un hôte et le degré d'H.S.R. de ce même hôte vis-à-vis des extraits antigéniques parasitaires.

A partir de 1950, des études importantes ont attiré l'attention sur une immunité non spécifique due à l'existence chez divers hôtes de facteurs antifongiques sécrétés par les glandes sébacées ou présents dans le sérum.

Actuellement, les recherches s'orientent vers l'étude de l'immunité humorale spécifique dans la mesure où l'application de techniques sérologiques modernes a permis de mettre en évidence des anticorps. Contrairement à ce que l'on pensait auparavant, des immunoglobulines, dirigées surtout contre les polysaccharides dermatophytiques, peuvent être fréquemment détectées.

Compte tenu des progrès importants accomplis récemment dans le cadre de l'immunologie cellulaire, il nous a semblé intéressant de reprendre les premiers travaux consacrés dans ce domaine aux dermatophytes.

En outre, comme dans ce même domaine de l'immunologie cellulaire les informations en notre possession sur l'anatomopathologie des mycoses superficielles n'ont été obtenues que par des études en microscopie optique; il était tentant de préciser à l'aide de la microscopie électronique les relations existant *in vivo* entre les cellules immunologiquement compétentes de l'hôte et les éléments parasitaires.

Enfin, notre travail a porté sur la forme saprophyte de *T. mentagrophytes* par la mise en évidence des polysaccharides sur coupes ultrafines. On a pu en effet constater dans le chapitre précédent que ceux-ci présentaient une importance primordiale sur le plan de la structure antigénique.

Deuxième CHAPITRE

MATERIEL ET METHODES



## DEUXIEME CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES.

### I.- MATERIEL.

- 1°) *Trichophyton mentagrophytes*
- 2°) Antigènes
- 3°) Animaux d'expérience

### II.- METHODES.

- 1°) Infestation des animaux
- 2°) Tests immunologiques
  - a) méthode générale d'approche
  - b) tests immunologiques *in vivo*
    - intradermo-réaction à lecture tardive
    - réaction d'anaphylaxie cutanée directe
  - c) tests immunologiques *in vitro*
    - test d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux
    - test d'inhibition de la germination
  - d) analyse statistique
- 3°) Microscopie électronique
- 4°) Microscopie optique

## I.- MATERIEL

### 1°) Trichophyton mentagrophytes.

La souche utilisée fut isolée d'un élevage de chinchillas parasités; sa morphologie microscopique correspond à la variété *granulosum* (Pl. I, fig. 4), sa forme sexuée à *Arthroderma vanbreuseghemii*. Nous entretenons cette souche sur deux milieux; le premier, milieu à la terre, permet de la conserver dans son état initial, le second, milieu de Sabouraud est utilisé couramment pour les expérimentations et la production de matériel en masse. Des rétrocultures sont effectuées périodiquement à partir de poils de cobayes parasités pour éviter le pléomorphisme de la souche.

### 2°) Antigènes.

Nous avons utilisé deux lots d'antigène pour cette étude.

- Un antigène "métabolique" \* préparé par filtration d'une culture de *Trichophyton mentagrophytes* âgée de 1 mois obtenue en Sabouraud liquide à 25°C. Cette solution a été dialysée 24 heures contre l'eau courante puis 48 heures contre de l'eau distillée avant lyophilisation.

- Un antigène "somatique" préparé à partir des éléments figurés obtenus dans les mêmes conditions que précédemment et préalablement lavés deux fois à l'eau distillée. Le mycélium est ensuite broyé dans l'eau salée à 1°/oo successivement 3 x 5 minutes au "VIRTISS" et 3 x 5 minutes au "TURRAX"; entre chaque opération la préparation est refroidie dans la glace pilée. On pratique alors une première centrifugation 10 minutes à 10.000 t/mn, puis le surnageant est centrifugé une seconde fois une heure à 20.000 t/mn. Le nouveau surnageant est alors dialysé puis lyophilisé suivant la même technique que pour l'antigène métabolique.

La teneur en azote total a été déterminée selon la méthode de DUMAS pour chaque extrait antigénique. Elle est de 5,43 % pour l'antigène métabolique et de 5,04 % pour l'antigène somatique.

---

\* En raison de la longue durée de la culture, cet extrait contient également des antigènes somatiques résultant de la dégradation de certains éléments du mycélium.

### 3°) Animaux d'expérience.

Il s'agit de cobayes mâles de souche DUNKIN-HARTLEY, d'un poids approximatif de 250 g, fournis par le C.E.S.A.L.-C.N.R.S.

## II.- METHODES.

### 1°) Infestation des animaux.

Elle fut opérée en appliquant sur la peau de chaque flanc, préalablement rasé, une suspension d'environ 15 millions de spores dans du miel sur une surface de 8 cm<sup>2</sup>. La réinfestation fut réalisée de la même façon, 6 semaines après l'infestation primaire.

### 2°) Tests immunologiques.

#### a) Méthode générale d'approche.

Pour chacun des tests pratiqués, nous avons tout d'abord détecté la réactivité de lots d'animaux sains vis-à-vis de diverses concentrations des antigènes utilisés.

Ces études préliminaires nous ont permis de choisir les concentrations d'antigène à utiliser pour la pratique ultérieure des tests chez les animaux infectés. Notre choix s'est porté sur les doses qui entraînent les réactions non spécifiques minimales (dues à la "toxicité" de l'antigène), chez les animaux sains, mais permettent de révéler néanmoins une réactivité significative chez des animaux infestés. Les animaux sains testés vis-à-vis de la concentration antigénique choisie nous ont fourni les valeurs témoins.

Parallèlement, chaque animal infesté fut son propre témoin vis-à-vis du solvant de l'antigène.

Dans un souci de clarté, nous ne mentionnerons dans ce chapitre que les concentrations antigéniques choisies pour chacun des tests, les modalités concernant le choix de cette concentration seront envisagées dans le chapitre résultats.

b) Tests immunologiques in vivo.

- Intradermo-réaction à lecture tardive : elle fut pratiquée en injectant 1,5 % d'azote antigène (N Ag) dans 0,05 ml de milieu de HANKS, la lecture étant effectuée après 24 heures et 48 heures.

- Réaction d'anaphylaxie cutanée directe : chaque animal ainsi testé reçoit une injection intraveineuse de Bleu d'Evans à 1 % à raison de 0,2 mg par 100 g de poids. Après une demi-heure, on pratique une injection intradermique de 0,015 µg d' $N_2$ Ag dans 0,5 ml de milieu de HANKS. L'animal est sacrifié et dépecé après 1/4 d'heure. On examine alors la face dermique du tégument (Pl. I, fig. 5).

c) Tests immunologiques in vitro.

- Test d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux. (Tableau V).

Ce test fut réalisé suivant une technique dérivée de celle initialement décrite par DAVID et coll. (28). Chaque animal est préparé par une injection intra-péritonéale de trioléinate de glycerol à 20 % dans 10 ml de milieu de HANKS. Trois jours après cette injection qui provoque un afflux de leucocytes, ceux-ci sont recueillis par lavage de la cavité péritonéale. Après trois rincages et centrifugations 10 minutes à 1.500 t/mn dans le milieu de HANKS, la suspension cellulaire est répartie en tubes à hémocrite et centrifugée à 4°C, 5 minutes à 1.700 t/mn. Le tube capillaire est alors coupé au ras du culot de centrifugation, la population cellulaire très dense, ainsi conditionnée, est placée dans des chambres de SYKES-MOORE contenant du milieu HLEG. + 10 % de sérum de veau (témoin), ou + 10 % sérum de veau + antigène. L'ensemble est ensuite placé 24 heures à 37°C. Dans ces conditions les cellules (essentiellement les macrophages) sortent activement du tube capillaire migrent sur une surface qui est évaluée par projection puis planimétrie. Le rapport surface de migration en présence d'antigène / surface de migration témoin constitue l'index d'inhibition de la migration des macrophages.

La concentration d'antigène utilisée fut de 7,5 µg  $N_2$  Ag/ml.

- Test d'inhibition de la germination (Tableau VI).

Nous avons mis au point ce test pour tenter de détecter un éventuel facteur toxique produit par les lymphocytes d'un animal infecté et agissant sur les éléments parasitaires.

TABLEAU V

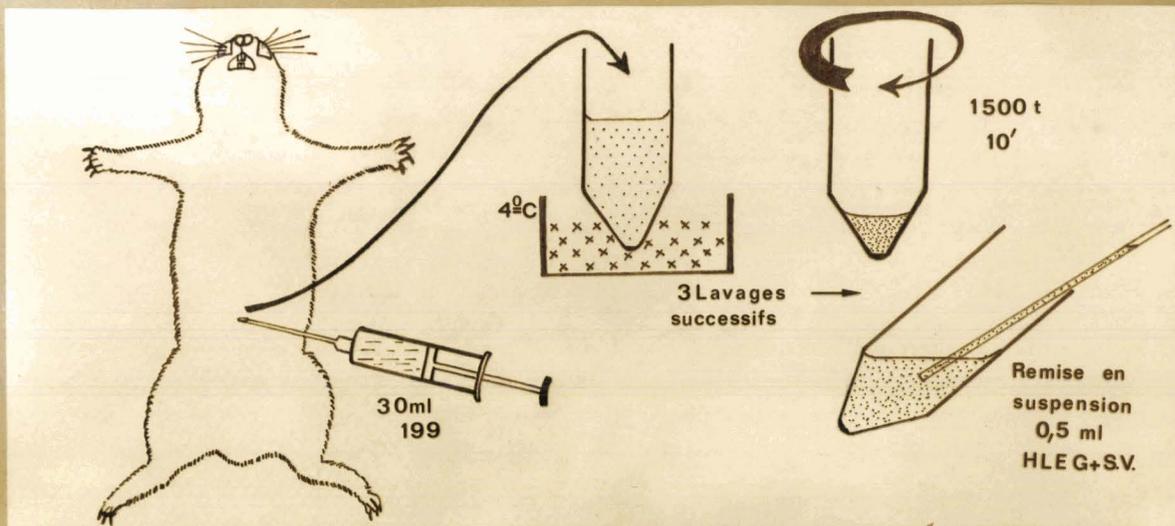
Représentation schématique de la technique du test d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux.



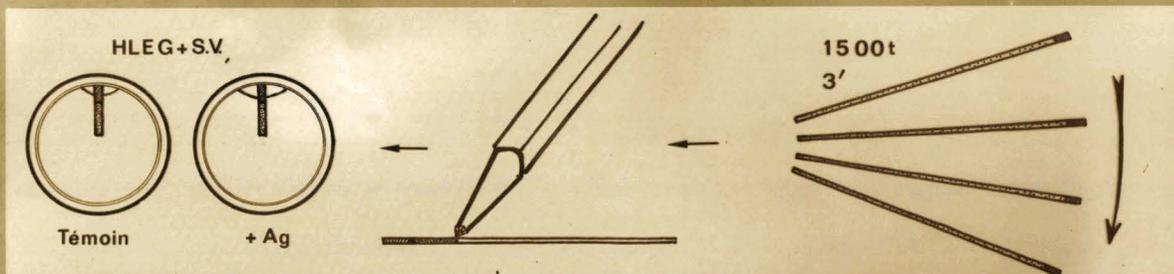
TEST DE L'INHIBITION DE LA MIGRATION  
DES MACROPHAGES

J.-4 Injection I.P. de trioléine

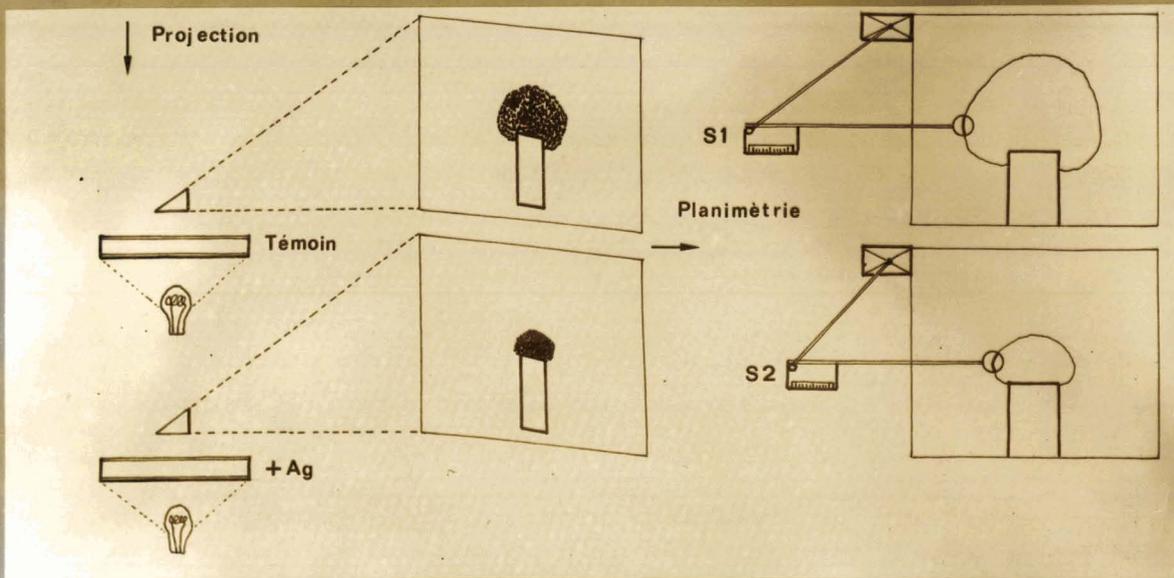
J.O Recueil des cellules



Répartition en cellules de SYKES-MOORE



J.+1 Lecture



$$\text{INDEX DE MIGRATION} = \frac{S2}{S1} \times 100$$



Les cellules lymphocytaires sont obtenues à partir des ganglions inguinaux, hypertrophiés, des cobayes infectés. Les ganglions, récupérés et lavés stérilement dans le milieu MEM, sont ensuite broyés et tamisés. La suspension cellulaire obtenue est centrifugée 10 minutes à 1.100 t/mn à 4°C. Après deux lavages, la concentration est ajustée à  $10^7$  cellules par ml dans le milieu d'incubation contenant 10 % de sérum de veau, 100 µg/ml de pénicilline, 100 µg/ml de streptomycine et 60 µg  $N_2$  Ag/ml. La culture a lieu 48 heures à 37°C sous agitation. Le surnageant est recueilli après centrifugation 10 minutes à 16.000 t/mn; 0,5 ml d'une suspension d'aleuries à  $10^3$  spores/ml sont alors incubés en présence de 0,5 ml de ce surnageant durant 48 heures à 24°C. Après des dilutions adéquates les spores ainsi traitées sont étalées sur milieu de Sabouraud solide placé à 24°C. Les colonies obtenues sont dénombrées après une semaine. Le rapport nombre de colonies produites par les aleuries ayant été en contact avec les surnageants de lymphocytes incubés avec l'antigène sur le nombre de colonies produites par les aleuries incubées uniquement avec l'antigène à la même concentration constitue ce que nous avons appelé l'index d'inhibition de la germination. (I.I.G)

d) Analyse statistique.

Les résultats concernant les tests *in vitro* ainsi que l'I. D.R. ont été analysés sur le plan statistique.

Pour l'étude cinétique : moyennes et écarts types ont été calculés pour chaque série d'animaux à un temps T. Les comparaisons entre chaque série ont été effectuées par le test de "t" corrigé aux petits échantillons. A chaque résultat que nous rapportons est associée la probabilité d'erreur (p) calculée à partir de la valeur de t et du nombre de degrés de liberté.

Pour l'étude des différences d'activité relatives aux antigènes : les résultats obtenus pour chaque animal ont été regroupés en deux séries distinctes suivant l'antigène utilisé. Ces séries appariées ont été analysées suivant la méthode des couples. Les résultats sont exprimés comme dans le cas précédent. Les calculs statistiques ont été effectués sur calculatrice Olivetti Programma IOI.

TABLEAU VI

Représentation schématique de la technique du test d'inhibition de la germination.

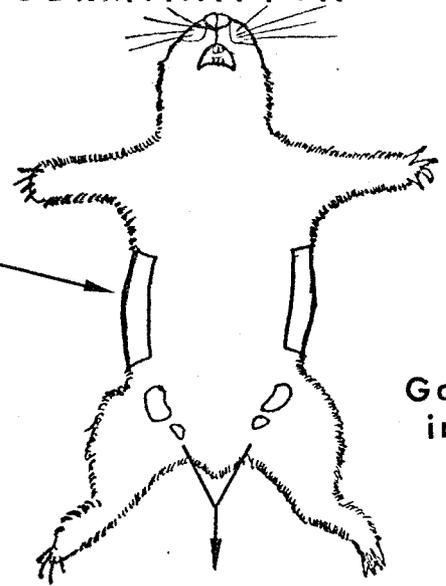
TEST D'INHIBITION DE LA GERMINATION

Culture T. mentagrophytes

Quantification  
de  
conidies  
spores/ml

Extrait  
antigénique

Infestation



Ganglions  
inguinaux

Broyage

Centrifugations  
Lavages  
Recueil des cellules  
ganglionnaires  
Ajustement à  $10^7$  t/l

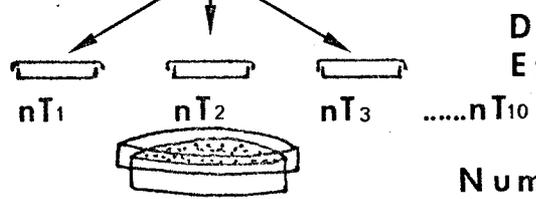
Incubation  
48h à 37°C

Recueil du  
surnageant

Témoin

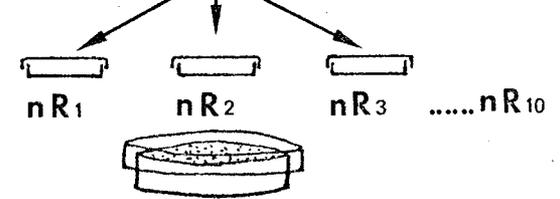
Incubation  
48h à 24°C

Réaction



Dilutions  
Etallements

Numerations



$$IIG = \frac{\frac{\sum nR}{10}}{\frac{\sum nT}{10}}$$



#### 4°) Microscopie électronique.

Nous avons réussi, au cours d'un précédent travail (83) à mettre au point partiellement une technique de préparation pour la microscopie électronique permettant une conservation **convenable** et simultanée des structures épidermiques et fongiques. Il s'agissait là en effet d'un préalable technique indispensable à une étude assez large des relations hôte-parasite. Nous avons de nouveau appliqué ces méthodes de préparation -que nous résumerons rapidement- à l'étude de l'épiderme sain, de l'épiderme parasité et de la forme saprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*.

##### - Fixation.

Elle s'opère en tampon cacodylate de sodium 0,1 M ajusté à pH 7,2 par HCl 0,1 N, et renfermant du chlorure de calcium à la concentration de  $10^{-5}$  mole/litre. Dans le tampon sont ajoutés les fixateurs : glutaraldéhyde, formaldéhyde, acroléine, dont les concentrations finales sont respectivement de 3 %, 2 %, 1 %. Le mélange fixateur est complété par addition de 2,5 % de diméthylsulfoxyde. La fixation dure 3 heures. Les fragments de matériel sont ensuite rincés dans le même tampon additionné de sucrose molaire durant une heure et demie, en opérant un changement de bain toutes les quinze minutes.

A ce lavage fait suite une post-fixation par le tétroxyde d'osmium à la concentration de 2 % dans le tampon cacodylate additionné cette fois de sucrose 0,2 M.

Toutes ces opérations sont effectuées à la température du laboratoire.

##### - Inclusion.

Après déshydratation à l'acétone, le matériel est inclus dans l'araldite. Il a été nécessaire pour l'étude de l'épiderme d'augmenter notablement les durées de l'inclusion pour obtenir une coupe correcte des poils soit : mélange acétone plus araldite (ââ) une nuit à 4°C puis une heure à la température du laboratoire suivie de trois bains de 1 heure, 5 heures, 1 heure à nouveau dans le mélange d'inclusion à 37°C. L'inclusion définitive fut réalisée en gélules ou en plaques siliconées et la polymérisation une nuit à 60°C.

- Coupes et traitement des coupes.

Les coupes, réalisées sur ultramicrotome PORTER-BLUM MT I à l'aide de couteaux de verre, ont été recueillies :

- soit sur des grilles de cuivre et contrastées à l'acétate d'Uranyle et au citrate de plomb,
- soit sur des grilles d'or et traitées selon la technique de Thiery (97) pour la recherche de polysaccharides sur coupes ultrafines de la forme saprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*. Il s'agit là d'une technique de cytochimie ultrastructurale assez couramment pratiquée. Rappelons que la réaction comprend, à la suite d'une oxydation périodique, la mise en évidence des fonctions aldéhydiques ainsi libérées. La révélation s'opère par l'intermédiaire du thiocarbohydrazide (T.C.H.) puis du protéinate d'argent. L'intensité du dépôt des grains d'argent, responsable du contraste aux électrons, est proportionnelle à la richesse en polysaccharides. En outre, plus les polysaccharides sont complexes, plus le temps d'action du T.C.H. doit être prolongé pour leur mise en évidence -- nous avons donc fait agir le T.C.H. durant des temps variant de 30 minutes à 48 heures. Parallèlement, des réactions témoins ont été effectuées : absence d'oxydation périodique, absence de T.C.H., simple révélation au protéinate d'argent.

Les coupes furent observées sur microscope électronique SOPELEM 75.

5°) Microscopie optique.

Préalablement à l'étude de chaque matériel en microscopie électronique, nous avons réalisé des coupes semi-fines colorées au bleu azur à 1°/oo. en solution alcaline. Cette technique permet de vérifier l'intérêt du matériel étudié mais également l'orientation des coupes que nous avons toujours, pour la peau de cobaye, réalisées perpendiculairement à la surface épidermique.

Troisième CHAPITRE

RESULTATS



### TROISIEME CHAPITRE : RESULTATS.

#### I.- DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE.

#### II.- TESTS IMMUNOLOGIQUES.

##### A.- TESTS *in vivo*

- 1°) Intradermo-réaction à lecture tardive
- 2°) Réaction d'anaphylaxie cutanée directe

##### B.- TESTS *in vitro*

- 1°) Test d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux
- 2°) Test d'inhibition de la germination

#### III.- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.

##### A.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS.

- 1°) Epiderme de cobaye sain
- 2°) Localisation fongique
- 3°) Modifications de l'épiderme parasité
- 4°) Infiltration cellulaire

##### B.- LA PAROI MYCELIENNE DE LA FORME SAPROPHYTE DE *Trichophyton mentagrophytes*. Etude de ses couches constitutives après application d'une méthode de mise en évidence des polysaccharides sur coupes ultrafines.

## I DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE.

Dès le troisième jour suivant l'infestation expérimentale, on assiste au développement d'une réaction érythémateuse localisée à la zone d'infestation (Pl. I, fig. 1). Par la suite, cette réaction s'intensifie : on assiste à une hyperkératose; desquamation intense et exsudation aboutissent à la formation de croûtes qui agglutinent les poils. Le décollement de certaines plages croûteuses révèle une surface lisse et suintante (Pl. I, fig. 2). Très souvent, ces manifestations débordent le cadre de la zone initiale d'infestation.

A partir de la troisième semaine, apparaissent des zones de tégument décapé, dépourvues de lésions, entièrement glabres, qui vont confluer pour recouvrir toute la surface où s'est manifestée la mycose, (Pl. I, fig. 3). La plupart des animaux se trouvent à ce stade aux environs du 28ème jour.

L'infestation secondaire provoque les mêmes manifestations, mais la réaction est plus accélérée et les animaux sont totalement guéris en une dizaine de jours.

## II TESTS IMMUNOLOGIQUES.

Pour chaque test, les résultats sont rapportés en fonction de la durée d'infestation sous forme de graphiques cinétiques (Tableau VII).

### A.- TESTS IN VIVO.

#### I°) Intradermo-réaction à lecture tardive (nombre d'animaux étudiés : 26).

Les résultats sont exprimés par le diamètre moyen de la réaction érythémateuse (en millimètres) associée à une induration des téguments sous-jacents (appréciée par palpation).

La lecture a été effectuée systématiquement à 24 et à 48 heures. On sait que, contrairement à ce qui se produit chez l'homme, la réaction d'H.S.R. cutanée est maximale chez le cobaye à 24 heures. (105) Dans ces conditions, la seconde mesure était destinée à mettre en évidence des

différences concernant la durée de la réaction. L'étude des résultats à la 48<sup>ème</sup> heure n'ayant pas fait ressortir de renseignements suffisamment significatifs par rapport aux lectures effectuées à la 24<sup>ème</sup> heure, nous ne les rapporterons pas.

Pour effectuer ces tests dans les conditions les plus favorables, nous avons été conduits à préciser d'abord la part des réactions non spécifiques dues à l'action des solutions antigéniques. Dans ce but, nous avons injecté à des animaux sains des dilutions décroissantes des antigènes utilisés en un volume de 0,05 ml.

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Type d'antigène	SITES				
	Dose d'Ag injectée par site en $\gamma$ N <sub>2</sub>	I2	6	3	I,5
Somatique		9,7	10,4	10,2	6,9
Métabolique		9,8	7,3	7,9	6,9

Intradermo-réaction, lecture à 24 heures : valeurs moyennes du diamètre (en mm) des réactions érythémateuses observées chez 5 animaux sains, en fonction de la dose et du type d'antigène utilisés. Remarque : dans ce cas aucune induration n'est associée à l'érythème.

On lit sur ce tableau :

- que l'antigène somatique présente, à dose égale une "toxicité" plus importante que l'antigène métabolique;
- que pour une dose de 1,5  $\gamma$  N<sub>1</sub> Ag par site d'injection, on observe les manifestations non spécifiques minimales. Cette dose s'étant par ailleurs révélée active chez des animaux infectés, c'est elle que nous avons choisie pour l'ensemble de nos tests.

Chaque animal infecté a été, en outre, son propre témoin pour une injection de 0,05 ml de solvant, de façon à vérifier l'inocuité de celui-ci. En aucun cas, dans ces conditions, nous n'avons remarqué de réaction de diamètre supérieur à 5 mm.

Nos résultats sont rassemblés dans les tableaux ci-joints.

- Etude cinétique.

Date-série Antigène	série A.S.		série B.S.			série C.S.				
	témoins animaux sains		J4	J5	J7	JII	JI2	J20	J2I	J27
Antigène	6,5	8,3	6,7	9,4	6,9	7,5	12,1	9,7	10,9	9,0
Somatique	6,2	6,8	4,8	5,0	5,8	9,8	11,4	9,8	11,6	9,2
	8,8									

Date-série Antigène	série A.M.		série B.M.			série C.M.				
	témoins animaux sains		J4	J5	J7	JII	JI2	J20	J2I	J27
Antigène	6,5	8,5	5,2	9,4	7,3	12,1	14,5	12,0	15,7	20,1
Métabolique	6,0	7,2	5,7	8,0	7,7	10,4	12,8	13,3	18,6	19,7
	6,8									

Intradermo-réaction. Lecture à 24 heures : diamètres (en mm) des réactions érythémateuses en fonction de la durée d'infection et de l'antigène utilisé. Les valeurs reportées symétriquement dans chaque tableau sont celles obtenues pour un même animal, en fonction de l'antigène.

Désignation des séries : la lettre A est affectée à des animaux témoins; les lettres B et C à des pools d'animaux différents, regroupés en fonction de la durée de l'infection; les lettres S et M font référence aux antigènes utilisés pour les tests (somatique et métabolique).



Leur analyse statistique fournit les résultats suivants :

I	B.S./A.S.	N.S.	3	B.M./B.S.	N.S.	a
	B.M./A.M.	N.S.		C.M./C.S.	0,001	p > 0,0001
2	C.S./A.S.	0,01	p > 0,001	] a		
	C.M./A.M.	0,001			p > 0,0001	
	C.S./B.S.	0,01	p > 0,001		] b	
	C.M./B.M.	0,001				p > 0,0001

Elle démontre donc :

que l'hypersensibilité retardée détectée par intradermo-réaction <sup>est</sup> mise en évidence de façon significative à partir du II<sup>ème</sup> jour d'infection avec les deux antigènes utilisés (2). Les résultats obtenus chez les animaux infestés depuis moins de II jours ne diffèrent pas significativement de ceux des témoins (I).

Par contre, ils sont significativement différents de ceux observés chez les animaux infestés depuis au moins II jours (2<sub>b</sub>).

Chez les animaux infestés depuis au moins II jours et qui présentent des réactions d'H.S.R. positives de façon significative, l'analyse statistique montre que les résultats obtenus avec l'Ag métabolique sont significativement supérieurs à ceux obtenus avec l'Ag somatique (3<sub>b</sub>).

Ces deux antigènes utilisés chez les animaux infestés depuis moins de II jours (époque à laquelle il n'existe pas d'H.S.R. démontrable), ne permettent pas d'observer de différence significative de la réactivité cutanée des animaux (3<sub>a</sub>).

## 2°) Réaction d'anaphylaxie cutanée directe (nombre d'animaux étudiés : 18).

Les résultats sont exprimés par la surface (en mm<sup>2</sup>) de la zone colorée mesurée sur la face dermique du tégument.

Détermination de l'action non spécifique due aux solutions antigéniques: Dans un court travail préliminaire, nous avons injecté à des animaux sains des dilutions décroissantes des antigènes utilisés en 0,05 ml de milieu de HANKS et mesuré le diamètre moyen puis calculé la surface des réactions colorées ainsi provoquées.

Type d'antigène	SITES				
	Dose d'Ag injectée par site en $\gamma$ N <sub>2</sub>	3	0,3	0,15	0,075
Somatique	95	50,2	26	19,6	0
Métabolique	38,5	19,6	19,6	0	0

Surfaces moyennes des réactions colorées (en mm<sup>2</sup>) établies chez 3 animaux témoins.

Les résultats particulièrement homogènes que nous avons obtenus permettent de constater que l'antigène somatique présente une "toxicité" plus importante que l'antigène métabolique; que pour ce dernier à la dose de 0,075  $\gamma$  N<sub>2</sub> Ag par site d'injection, les réactions aspécifiques sont nulles. C'est cette dose et cet antigène que nous avons utilisés pour la pratique ultérieure de nos tests.

Parallèlement, chaque animal infecté a été son propre témoin par injection de 0,05 ml de solvant, ceci au cas où sa réactivité cutanée serait modifiée par l'infection.

- Etude cinétique.

Interprétation : certains auteurs reprochant parfois à ce test son manque de spécificité, nous avons exprimé nos résultats en retranchant de la surface de la réaction produite par l'Ag, la surface de la réaction témoin (lorsqu'elle existe) :  $\Delta$  s.

Jour du test	Série A		Série B			
	J6	J11	J17	J24	J31	
$\Delta$ s	0 0	0 0	40 57	74 83	66 49	
	0	0	28	74	58	

Différences de surface (en mm<sup>2</sup>) entre la réaction produite par l'injection de solvant et la réaction produite par l'injection d'antigène pour des animaux infectés, en fonction de la durée d'infection.

Ce premier travail concernant cette réaction n'ayant porté que sur un nombre réduit d'animaux, nous ne pouvons appliquer l'analyse statistique. Néanmoins, l'étude des résultats montre de façon très nette qu'une réaction positive n'apparaît qu'entre le 11<sup>ème</sup> et le 17<sup>ème</sup> jour

d'infection. Dans le cadre limite de notre investigation, la réaction atteint son maximum aux environs du 24<sup>ème</sup> jour.

#### B.- TESTS IN VITRO.

##### I°) Test d'Inhibition de la Migration des Macrophages péritonéaux (nombre d'animaux étudiés : 95).

Les résultats sont exprimés par l'index d'inhibition de la migration des macrophages. Avertissement : Pour ce test, ainsi que pour le test suivant, nous détectons l'inhibition spécifique d'une réaction par suite d'une sensibilisation des animaux aux antigènes fongiques. En conséquence, l'intensité des réactions est exprimée sous forme d'index qui seront donc d'autant plus faibles que les réactions seront plus accentuées.

##### - Toxicité des antigènes utilisés vis-à-vis des cellules péritonéales in vitro.

De façon à éliminer des interférences éventuelles de phénomènes non spécifiques et pour nous placer dans les meilleures conditions pour la pratique ultérieure du test, nous avons testé la toxicité des antigènes utilisés pour des cellules péritonéales d'animaux sains. Pour ce travail préliminaire, nous avons établi une gamme de dilutions d'antigènes en tirant profit de l'expérience antérieurement acquise dans d'autres modèles expérimentaux. Nos résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Type d'antigène \ Concentration Ag en $\gamma$ N <sub>2</sub> /ml	60	15	7,5	3,75
Somatique	107	116	94	107
Métabolique	79	136	127	125

Détermination de l'action des antigènes en fonction de leur concentration. Valeurs moyennes des index de migration observés chez 7 cobayes sains.

On lit sur ce tableau :

- que les deux lots d'antigène ne sont pas toxiques pour des dilutions égales ou inférieures à  $15 \times N_2 \text{ Ag/ml}$  (index très voisin de 100);
- que, dans ces limites, l'antigène métabolique semble stimuler davantage la migration de cellules non sensibilisées que l'antigène somatique.

Cette dose s'étant révélée par ailleurs active chez des animaux infestés, nous avons pratiqué l'ensemble de nos tests en nous situant une concentration antigénique de  $3,75 \times N_2 \text{ Ag/ml}$ .

- Etude cinétique.

Une analyse statistique préliminaire a permis de montrer que nous pouvions regrouper les résultats de séries expérimentales différentes ce qui peut déjà être considéré comme un critère de validité du test utilisé.

L'ensemble des résultats est consigné dans le tableau ci-dessous.

désignation des séries	A	B	C	D	E	F	G	H
lots d'animaux	témoins	infection primaire						réinfestation
		J7	J14	J21	J28	J35	J42	7ème jour
Valeur des index	I38.84.90.89	30.82	49.43	59.28	50.47	72.84	84.73	65.152.128
	II8.103.107	73.30	65.59	56.44	53.62	56.92	73.110	104.96.102
	I42.129.116	21.59	42.45	53.51	48.62	83.66	76.66	99.94.123
	I70.138.104	24.50	54.39	78.30	51.64	78.76	89.100	103.111.80
	I26.101.125	32.65	40.46	70.30	75.59			95.101
	90.118		85.68	56	78			
		49.73						
Valeur moyenne par série	115	54,5	53,9	50,4	59,1	75,9	83,8	103,7

Valeur des index d'inhibition de l'étalement des macrophages péritonéaux, observées chez des animaux sains, des animaux infectés depuis des temps variables durant l'infection primaire et des animaux réinfectés testés une semaine après la réinfestation. A chaque série expérimentale a été affectée de façon arbitraire une désignation par lettre.

- Analyse statistique.

I	B/A	0,00I	> p	0,000I	3	D/C	N.S.	
	C/A	0,00I	> p	0,000I		D/E	N.S.	
	D/A	0,00I	> p	0,000I		D/F	0,0I > p > 0,00I	
	E/A	0,00I	> p	0,000I		D/G	0,0I > p > 0,00I	
	F/A	0,00I	> p	0,000I		4	D/H	0,00I > p > 0,000I
	G/A	0,00I	> p	0,000I				
2	H/A	N.S.						

L'analyse statistique permet donc de montrer que, lors de l'infection primaire, les résultats obtenus chez les animaux infectés sont significativement différents de ceux obtenus chez des animaux sains (I). Des différences également significatives sont mises en évidence entre les index fournis par les animaux infectés depuis 3 semaines et les animaux infectés depuis 5 semaines et plus (3). Les index observés chez les animaux réinfectés ne diffèrent pas significativement de ceux des animaux témoins (2). Par contre, une différence significative entre les animaux réinfectés et les animaux infectés depuis moins de trois semaines est mise en évidence (4).

- Etude de l'action des deux types d'antigène.

Pour une même série expérimentale, le tableau ci-dessous rapporte la valeur des index d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux obtenus pour des mêmes animaux en fonction de l'antigène utilisé.

Cobaye n°	2 semaines d'infection					3 semaines d'infection					4 semaines d'infection					
	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Mycélien (série A)	51,8	46,5	68,1	48,9	44,7	60,1	70,3	30,2	71,3	56,0	51,0	62,3	51,0	63,3	74,8	59,0
Métabolique (série B)	49,2	43,6	59,8	42,3	53,9	40,2	59,0	28,4	53,2	44,1	40,8	50,1	47,2	53,4	62,6	48,0
$\Delta I$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2,6	2,9	8,3	6,6	9,2	19,9	11,3	2,9	18,1	11,9	10,2	12,2	3,8	9,9	12,2	11,0

Valeurs des index d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux obtenues en fonction des antigènes utilisés. Résultats relatifs à l'infection primaire à partir de la 2ème semaine suivant la date d'infestation. Chaque colonne verticale correspond aux résultats obtenus chez un même animal auquel a été affecté un numéro de façon arbitraire. Le dernier nombre dans chacune de ces colonnes figure la différence entre les index obtenus avec les 2 antigènes.

L'antigène métabolique semble donc se révéler beaucoup plus actif que l'antigène mycélien.

L'analyse statistique des séries appariées A et B suivant la méthode des couples a permis de montrer que cette différence d'activité de deux types d'antigène pouvait être considérée comme significative avec une probabilité d'erreur inférieure à 0,0001.

2°) Test d'inhibition de la germination (nombre d'animaux étudié 43).

Les résultats sont exprimés par l'index d'inhibition de la germination.

Une première étude sur 6 animaux non infectés nous a permis de constater que lors de la pratique de ce test avec des cellules ganglionnaires d'animaux sains on n'observait aucune inhibition de la germination. Les valeurs des index de ces animaux témoins nous ont servi de référence par la suite. Chez les animaux infectés, nous avons réalisé ce test à des intervalles de 7 jours durant 5 semaines au cours de l'infection primaire, les animaux réinfectés ont été testés une semaine après la réinfection. L'ensemble des résultats obtenus est consigné dans le tableau ci-dessous.

Lots d'animaux:	Témoins	infection primaire					réinfection
		J7	J14	J21	J28	J35	7ème jour
valeur des index	I05	86,4	81	59	99	98	99.118.89.79 118.67.67.69 78.107.66.66 73
	I04	83,3	62	74	107	77	
	98	81,6	106	83	120	118	
	I05	88,5	95	75	95	100	
	I03	87,5				87	
	I04	88,1				90	
Valeur moyenne par série	I03,1	85,9	86	72,75	105,2	95	84,3
Désignation des séries	A	B	C	D	E	F	G

Valeurs des index d'inhibition de la germination observées chez des animaux sains, des animaux infectés depuis des temps variables, lors de l'infection primaire et des animaux réinfectés testés une semaine après la réinfection. A chaque série expérimentale est affectée une désignation par lettre.

- Analyse statistique.

1	B/A	0,001	p >	0,0001	3	G/A	0,05	p >	0,01
	C/A	0,05	p >	0,01					
	D/A	0,001	p >	0,0001					
2	E/A	N.S.							
	F/A	N.S.							

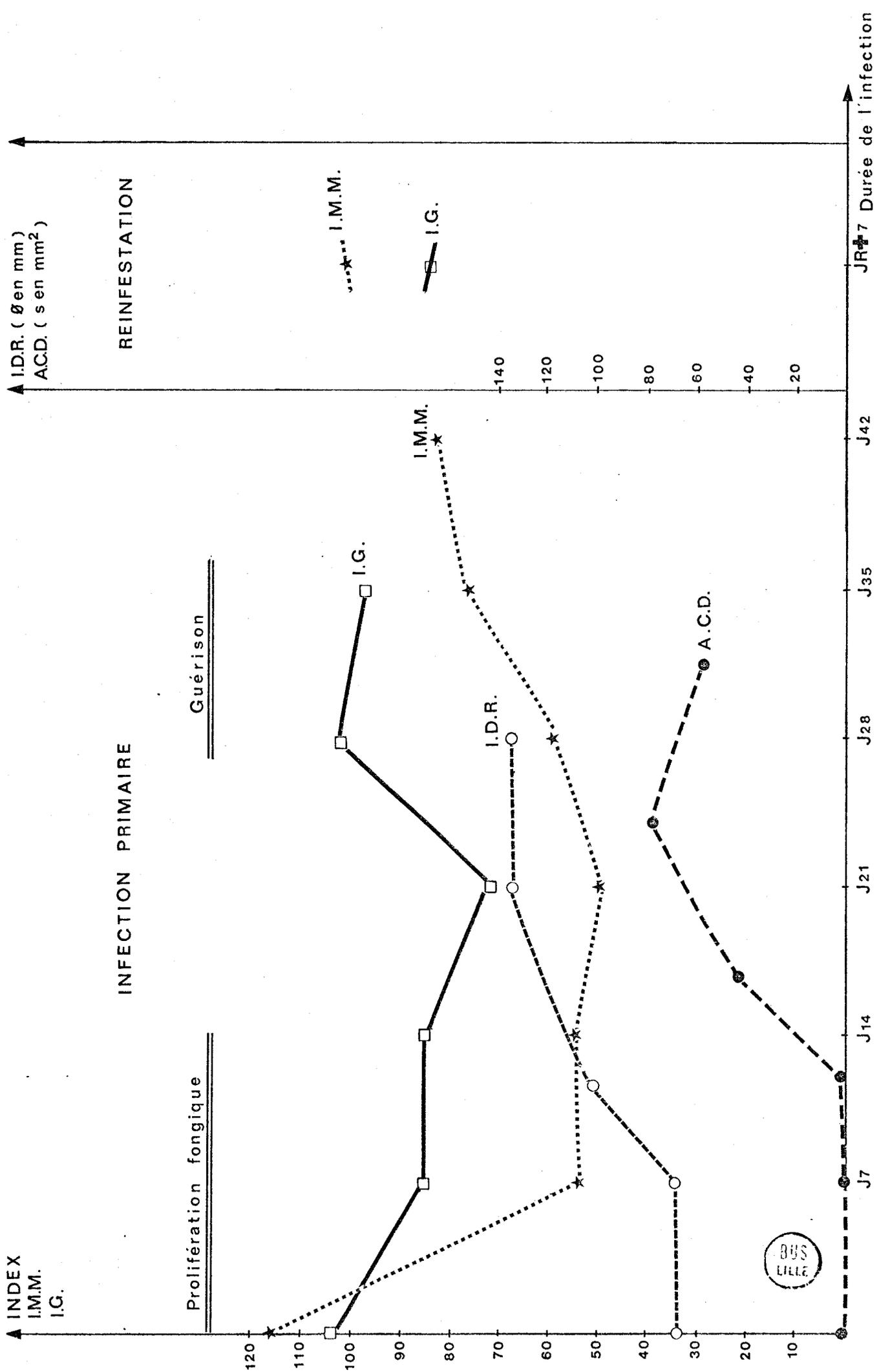
L'analyse statistique permet de montrer que les résultats obtenus chez les animaux infectés depuis moins de 3 semaines sont significativement différents de ceux observés chez les animaux témoins (1). Passé ce délai d'infection, les différences ne sont plus significatives (2). Par contre, la réinfestation se traduit par des index à nouveau significativement différents de ceux fournis par les animaux témoins(3).

TABLEAU VII

Résultats de l'ensemble des tests immunologiques pratiqués - durant l'infection primaire, en fonction de la durée d'infection,

- une semaine après la réinfestation,

- Evolution cinétique de :
- l'hypersensibilité retardée appréciée *in vivo*, par intradermo-réaction (I.D.R.) et *in vitro* par le test d'inhibition de la migration des macrophages (I.M.M.),
  - l'action inhibitrice de la germination (I.G.), vis-à-vis des spores de dermatophyte, engendrée spécifiquement par des médiateurs d'origine lymphocytaire,
  - de la synthèse d'anticorps de type anaphylactique détectés par la méthode d'anaphylaxie cutanée directe.



BUS LILLE

### III.- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.

#### A.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS.

##### I°) Epiderme de cobaye sain (Planche II).

Il se présente comme un tissu très dense formé de trois ou quatre couches de cellules jointives (fig. I). Il est limité du derme sous-jacent par une membrane basale, et se différencie nettement à sa partie superficielle en *stratum corneum* formé d'écailles aplaties, denses aux électrons.

On distingue, dans les coupes à faible grossissement des cellules en activité métabolique, les divers organites intervenant dans le processus de kératinisation (fig. I) :

- Les tonofilaments (tf) : denses aux électrons, regroupés en faisceaux, ils correspondent aux tonofibrilles de la microscopie optique. Ces structures sont abondantes dès la couche germinative (fig. I, 2, 3, 6) et se retrouvent ensuite dans les autres couches épidermiques.

- Les kératinosomes (k) (ou corps d'Odland) : ces granules de 100 à 300 nm. de diamètre, moyennement denses aux électrons, apparaissent dans la zone supérieure du *stratum spinosum*. Ils s'observent encore dans le *stratum granulosum* où ils se situent généralement en périphérie de la cellule (fig. 3).

- La kératohyaline (K) est localisée exclusivement au niveau du *stratum granulosum*. Elle forme des flaques de dimensions variables, très denses aux électrons, sans organisation interne (fig. 3).

##### Dispositifs d'attache cellulaires :

Les cellules de la couche germinative qui émettent de nombreuses évaginations intra-dermiques sont insérées sur la membrane basale par l'intermédiaire d'hémi-desmosomes (H. De) (fig. 2). Aux grandissements

utilisés, les dispositifs d'attachement du type desmosome (De) (fig. 4, 6), et tenon mortaise (fig. 4, 6), qui relient les cellules entre elles, donnent à l'épiderme un aspect très compact.

De façon épisodique, on peut observer entre les kératinocytes, des expansions dendritiques de cellules beaucoup plus claires aux électrons (fig. 4, 5). Elles appartiennent aux cellules de Langerhans qui présentent un appareil de Golgi bien développé, des polyribosomes, des saccules de réticulum endoplasmique granuleux, ainsi que des mitochondries assez caractéristiques à matrice sombre et à nombreuses crêtes souvent contournées. Elles ne possèdent aucun des organites décrits précédemment dans les kératinocytes, mais des structures caractéristiques, denses aux électrons, limitées par deux lames parallèles : les granules de Langerhans (g). Ces granules sont parfois en continuité avec des vésicules cytoplasmiques créant des images en "raquette" (fig. 4); dans d'autre cas, ils réalisent des images de branchement (fig. 5).

## 2°) Localisation fongique (Planche III).

Lors de l'infection primaire, le mycélium est localisé essentiellement en position intracellulaire dans les couches profondes du *stratum corneum* (fig. 1). Aux grossissements plus importants (fig. 2), les éléments parasitaires apparaissent séparés de l'espace intercellulaire par un liseré de kératine (Ec), parfois très mince et constitué par l'enveloppe des cellules cornées. Cette enveloppe souvent accolée directement à la paroi fongique semble intacte, mais par contre, la kératine intra-cellulaire située à proximité du mycélium présente des plages de lyse (fig. 2).

Lors de l'infection secondaire (fig. 3), les éléments parasitaires (M) vus en microscopie optique, restent situés au niveau des couches les plus superficielles du *stratum corneum* (*stratum disjunctum*) et semblent localisés à l'extérieur des cellules cornées. Ceci fut confirmé en microscopie électronique (fig. 4, 5) où nous n'avons jamais observé d'éléments fongiques en position intracellulaire.

## 3°) Modifications de l'épiderme parasité (Planches IV, V, VI).

Dès les premiers stades de l'agression parasitaire, se manifeste un envahissement cellulaire massif du derme sous la membrane basale.

Au niveau de l'épiderme un oedème extracellulaire se constitue; les cellules épidermiques, y compris celles de la couche germinative, se disjoignent et deviennent étoilées (Pl. IV, fig. I).

Par la suite, la lyse des mitochondries (Pl. IV, fig. 2; Pl. V, fig. 3; Pl. X, fig. I) et une disposition anarchique des tonofilles à l'intérieur de certains kératinocytes (Pl. IV, fig. 2) deviennent apparentes, même à de faibles grossissements. Il est probable que les images de kératine aberrante et très contournée au niveau du *stratum corneum* constituent le reflet de l'évolution de telles structures vers les couches superficielles de l'épiderme (Pl. IV, fig. 3).

De même, les méats observés dans les cellules du *stratum corneum* (Pl. IV, fig. 4) traduisent de façon très nette une modification de la kératinisation, qui pourrait être en relation avec l'existence des mitochondries altérées dans les couches épidermiques inférieures et dont le squelette ne serait pas kératinisé, ou d'inclusions lipidiques, mais nous n'en n'avons pas observés dans les couches sous-jacentes ou d'un déficit en kératine.

De nombreuses cellules épidermiques montrent des indices de synthèse protéique anormale, très active (Pl. V, fig. I, 2). Le cytoplasme de ces cellules - par exemple au niveau du *stratum spinosum* (Pl. V, fig. I) ou du *stratum granulosum* (Pl. V, fig. 2) - montre de très nombreux ribosomes, parfois groupés en polysomes. Les saccules ergastoplasmiques sont distendus. Il ne semble pas qu'il s'agisse là d'un artefact de fixation, car l'épaisseur de l'espace délimité entre les deux membranes nucléaires est conservée. D'autre part, nous avons souvent constaté, notamment au niveau de la couche germinative, l'absence de tonofilaments à l'intérieur de kératinocytes (Pl. VII, fig. I, 3).

L'altération des cellules épidermiques la plus souvent rencontrée se manifeste par le développement de vacuoles (v), souvent juxta-nucléaires, qui peuvent atteindre des tailles considérables (Pl. V, fig. 3, 4). Ces vacuoles se différencient parfois au sein de cellules dont l'intégrité du cytoplasme est assez bien conservée (Pl. V, fig. 4), dans d'autres cas le cytoplasme présente un aspect "floconneux" de cellule en voie de lyse, les mitochondries sont très altérées (Pl. V, fig. 3) et les desmosomes du kératinocyte peuvent être rompus.

Parallèlement, un dépôt de matériel granuleux, entre les cellules épidermiques distendues, traduit une réaction oedémateuse extracellulaire (Pl. V, fig. 3, 4).

Certaines plages épidermiques très altérées (Pl. VI) montrent divers stades d'évolution des vacuoles. Elles augmentent progressivement de taille à l'intérieur des kératinocytes et peuvent même éclater dans l'espace intercellulaire, induisant ainsi la lyse de la cellule. Pour de telles observations, l'intervention d'un artéfact de fixation semble pouvoir être exclue de façon formelle, car nous avons toujours utilisé des techniques de fixation rigoureusement identiques à celles pratiquées pour l'épiderme de cobaye sain.

Enfin, nous avons souvent constaté la rupture du cytoplasme à proximité des desmosomes de cellules épidermiques disjointes (Pl. V, fig. 3; Pl. VI; Pl. X, fig. I; Pl. XI).

#### 4°) Infiltration cellulaire.

Entre les cellules épidermiques étoilées, un grand nombre de cellules visiblement distinctes des kératinocytes s'insinuent dans les espaces créés par la dissociation cellulaire de l'épiderme (Pl. VII, fig. 2). L'étude ultrastructurale précise la localisation, la nature et, donc, l'origine dermique de ces cellules. Elles appartiennent essentiellement à trois populations différentes qui sont respectivement, par ordre croissant de fréquence : les plasmocytes, dont la présence n'est qu'occasionnelle, les lymphocytes, parmi lesquels les cellules activées sont beaucoup plus nombreuses et les cellules du système phagocytaire mononucléaire.

Il faut cependant souligner qu'il est extrêmement délicat d'identifier certaines cellules immunologiquement compétentes en microscopie électronique et qu'en conséquence, l'interprétation que nous proposons ne peut en aucun cas revêtir un caractère absolu.

##### a) Nature des cellules infiltrées.

###### - Cellules lymphocytaires (Lc) :

Nous avons observé des cellules caractérisées par un noyau, parfois échanuré, à chromatine très dense, dont le cytoplasme annulaire contient des ribosomes mais peu d'organites (Pl. IX, fig. 2). Ce type de

cellule, assez rare sur nos coupes, correspond à notre avis à la morphologie de lymphocytes à l'état quiescent. D'une façon relativement constante, ces lymphocytes au repos présentent des signes de dégénérescence cellulaire, comme une dilatation anormale de l'enveloppe nucléaire et un aspect "floconneux" du cytoplasme.

Les cellules que nous avons identifiées comme des lymphocytes activés furent, par contre, beaucoup plus fréquemment rencontrées (Pl. VIII, fig. 2). La chromatine nucléaire apparaît alors moins dense; le cytoplasme plus étendu contient, outre des ribosomes nombreux, une grande quantité de vésicules de pinocytose, quelques lysosomes et des saccules ergastoplasmiques. L'aire paranucléaire, lorsqu'elle est intéressée par la coupe, renferme un appareil de Golgi (Go) bien développé. Ensuite, on note la présence de mitochondries de grande taille. La parenté entre les cellules que nous venons de décrire et certaines cellules analogues rencontrées dans les capillaires dermiques paraît évidente (Pl. VIII, fig. I).

- Cellules plasmocytaires (Pl) (Pl. IX, fig. 3; Pl. XIII, fig. I) :

Elles sont rares. Leur cytoplasme caractéristique contient une grande quantité de saccules ergastoplasmiques, sur la face externe desquels sont disposés des ribosomes. Entre les espaces ainsi délimités par l'ergastoplasme, on trouve de nombreuses mitochondries, des ribosomes isolés ou en polysomes, et quelques lysosomes.

- Cellules du système phagocytaire mononucléaire :

Ce sont les plus fréquentes dans l'épiderme parasité. Elles comprennent les monocytes et les macrophages.

Les monocytes (Mo) (Pl. VII, fig. I, 3; Pl. IX, fig. I, 4; Pl. X, fig. I, 2) ont une morphologie voisine de celle des lymphocytes activés et la distinction entre ces deux cellules est parfois délicate (Pl. VIII, fig. 2; Pl. IX, fig. I). Cependant, les mitochondries allongées, les saccules ergastoplasmiques moins nombreux, aplatis, et disséminés dans un cytoplasme plus clair aux électrons, constituent autant de critères d'identification d'un monocyte. L'existence d'un grand nombre de filaments (f) cytoplasmiques périnucléaires (Pl. IX, fig. I; Pl. X, fig. 2)

apporte un argument supplémentaire et, semble-t-il, plus spécifique, pour rattacher ces cellules à la population monocytaire.

Les macrophages (Ma) (Pl. VII, fig. I; Pl. X, fig. 2; Pl. XI, fig. 1; Pl. XIV, fig. 4) sont, par contre, facilement identifiables. Leur noyau, dont l'hétérochromatine est répartie finement à la périphérie, est fortement échancré. Leur cytoplasme est très riche en organites qui lui confèrent une densité aux électrons plus importante (Pl. VII, fig. I; Pl. X, fig. 2) que celle du cytoplasme des autres types de cellules infiltratives. Parmi les organites cytoplasmiques, les mitochondries ont une morphologie assez voisine de celles du monocyte; vésicules de pinocytose, lysosomes et hétérolysosomes sont observables dans le cytoplasme. Les macrophages sont encore caractérisés par l'émission de nombreux pseudopodes (Pl. XI). Avec des grossissements plus importants, on remarque également l'aspect tourmenté du plasmalemme au voisinage duquel s'allongent fréquemment des faisceaux de filaments cytoplasmiques (f) (Pl. XV, fig. 3).

#### b) Localisation des cellules infiltrées.

Les divers types de cellules que nous venons de décrire se différencient assez facilement des cellules épidermiques par leur noyau et la densité aux électrons de leur cytoplasme.

D'autre part, bien que ces critères d'identification n'aient pas, une fois encore, une valeur absolue, l'aspect du cytoplasme des cellules migrantes et l'absence de granules spécifiques semblent interdire de les confondre avec les cellules de Langerhans.

D'une manière générale, les cellules infiltrées dans l'épiderme sont situées dans la réaction oedémateuse extracellulaire, à proximité et parfois en continuité avec les cellules épidermiques entièrement dissociées ou encore reliées entre-elles par des desmosomes.

La figure I planche VII montre, au niveau de la couche germinative d'une portion d'épiderme où la réaction oedémateuse est intense, des expansions cytoplasmiques de monocytes ainsi qu'une expansion de macrophage venant de franchir la membrane basale épidermique. La figure 3 planche VII permet d'observer un monocyte situé sensiblement au même niveau, entre la première et la seconde couche épidermique. Sur ces deux micrographies, les tonofilaments ont disparu au sein des kératinocytes, complètement dissociés.

Les planches VIII figure 2 et planches IX et X mettent en évidence diverses cellules infiltrées parvenues au niveau des couches moyennes de l'épiderme; leurs expansions se situent au contact de la membrane plasmique des kératinocytes, au voisinage de laquelle de nombreux faisceaux de tonofilaments sont présents. Certaines images (Pl. IX, fig. 4) évoquent un englobement de desmosomes rompus par une cellule du type monocytaire.

Nous avons pu observer une cellule du même type faisant éclater lors de son passage une vacuole de kératinocyte, identique à celles décrites dans le chapitre précédent concernant les altérations de l'épiderme (Pl. X, fig. 1). La continuité entre les structures intracytoplasmiques d'une cellule épidermique en voie de lyse et d'un monocyte ne montrant que peu de signes d'altération est ainsi réalisée.

L'infiltration cellulaire est intense, comme en témoigne le fait que, sur une faible portion épidermique, on puisse localiser deux monocytes et une expansion de macrophage (Pl. X, fig. 2) entourant une cellule épidermique déformée.

A faible grandissement, certaines images (Pl. XI) traduisent de façon évidente un déplacement de cellules du type macrophagique à l'intérieur du réseau formé par les cellules épidermiques étoilées. Le corps de la cellule s'insinue dans un espace intercellulaire distendu et émet des pseudopodes dans les espaces intercellulaires voisins, vers la surface cutanée.

Il nous a été donné d'observer la coalescence de macrophages parvenus dans une même zone épidermique (Pl. XII). Ces cellules contiguës s'imbriquent fortement les unes dans les autres en une masse qui repousse en périphérie les kératinocytes. Ce processus correspond sans doute au début de l'individualisation d'une cellule géante. Autour de cette structure, les kératinocytes sont comprimés et leurs tonofilaments réorientés forment une couronne concentrique à la future cellule géante.

Il est remarquable que certaines cellules migrantes parviennent jusqu'à la surface même de l'épiderme, au niveau des couches cornées, lieu de localisation parasitaire (Pl. XIII, XIV). Ce phénomène se manifeste durant l'infection primaire, lors de la dissociation d'une croûte de l'épiderme sous-jacent nous avons pu notamment reconnaître un plasmocyte (Pl. XIII, fig. 1), parvenu à cette zone de rupture. Il se répète encor

lorsque l'épiderme présente une nécrose moins marquée au cours de l'infection primaire, mais surtout durant l'infection secondaire. En microscopie optique on note l'existence de cellules entre les écailles cornées du *stratum corneum*; elles montrent souvent une surface cytoplasmique considérable sans que l'on puisse dire s'il s'agit là d'images de lyse ou d'un étalement très marqué de cellules macrophagiques (Pl. XIV, fig. 1, 2). En microscopie électronique, on observe de rares cellules intactes au sein de nombreux débris (Pl. XIII, fig. 2, 3; Pl. XIV, fig. 4); ceci se conçoit facilement, car les cellules à ce niveau doivent s'altérer rapidement. La localisation de certains reliquats cellulaires, notamment de noyaux, témoigne qu'il a existé un contact étroit entre les cellules migrantes et celles du *stratum corneum* (Pl. XIV, fig. 3). Les cellules ainsi parvenues au niveau des couches cornées appartiennent surtout à la population macrophagique (Pl. XIII, fig. 2; Pl. XIV, fig. 4) et plus rarement à la population lymphocytaire (Pl. XIII, fig. 3). L'existence de vésicules cytoplasmiques au contact du plasmalemme, s'ouvrant dans le milieu externe, traduit certainement des interactions entre certains macrophages et le milieu qui les entoure (Pl. XIV, fig. 4).

c) Etat physiologique des cellules infiltrées :

Les lymphocytes activés que nous avons observés (Pl. VIII) montrent sans conteste les caractéristiques d'une intense activation de leur métabolisme, par rapport aux mêmes cellules à l'état quiescent (Pl. IX, fig. 2).

De même, les imbrications très étroites des plasmalemme de macrophages contigus ou les multiples microvillosités des pseudopodes prouvent la forte activation des macrophages, composants les plus actifs du système phagocytaire mononucléaire (Pl. XV).

B.- LA PAROI MYCELIENNE DE LA FORME SAPROPHYTE DE *Trichophyton mentagrophytes*. Etude de ses couches constitutives après application d'une méthode de mise en évidence des polysaccharides sur coupes ultrafines.

Nous nous sommes adressés à une culture âgée de 3 semaines obtenue sur milieu de Sabouraud solide.

Au cours de cette étude, nous avons pu observer, outre les aleuries, deux types d'hyphes : des hyphes jeunes, à activité métabolique intense dont le cytoplasme est très riche en organites (Pl. XVI, fig. I, 3) et des hyphes plus âgées, caractérisées par l'existence de vacuoles qui augmentent de taille au cours du vieillissement cellulaire, et repoussent le cytoplasme en position pariétale (Pl. XVI, fig. 2; Pl. XIX, fig. 3, 4, 5).

Sur les coupes contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (Pl. XVI, fig. I, 2, 3), la paroi apparaît bilaminée. Elle comporte une lame externe fine, d'épaisseur variable (20 à 80 nm), dense aux électrons, à aspect pelucheux, ne participant pas à la formation des septa et une couche interne, plus épaisse (100 à 300 nm), plus claire aux électrons et dont la structure varie suivant les micrographies, tantôt très homogène (Pl. XVI, fig. 3), tantôt d'aspect fibrillaire (Pl. XVI, fig. I, 2). Il est assez courant d'observer au niveau de la base des septa un triangle de matériel plus clair que le reste de la paroi (Pl. XVI, fig. I).

Enfin, des masses sphériques homogènes d'un diamètre maximal de 550 nm, très denses aux électrons, assimilables aux corps de Woronin (Pl. XVI, fig. I), sont localisées au niveau des septa; leur présence est toujours associée à celle de pores intercellulaires, en un nombre variant de 3 à 5, suivant la partie intéressée par la coupe.

C'est après 24 heures d'action du T.C.H., lors de la pratique de la réaction de Thiery, que la paroi est le plus facilement dissociable en ses différentes couches constitutives, tant pour le mycélium jeune que pour le mycélium âgé.

I°) Chez les jeunes éléments mycéliens (Pl. XVII; Pl. XVIII; Pl. XIX, fig. I, 2), on rencontre, de la périphérie vers le centre, 3 couches pariétales de densité croissante aux électrons :

- Une couche externe de 40 à 80 nm, de réactivité assez faible, discontinue lorsqu'elle est coupée tangentiellement (Pl. XVII, fig. 2) ou lorsqu'elle est dissociée (par exemple lors du détachement d'une aleurie du mycélium qui lui a donné naissance) (Pl. XVI, fig. 4, 5), elle renferme des fibrilles de gros diamètre sans arrangement défini; certaines de ces fibrilles ont une structure du type trilaminée

- Une couche intermédiaire de 80 à 100 nm, de réactivité moyenne, homogène sur les coupes transversales ou longitudinales; sur les coupes obliques, on devine une orientation des fibrilles vraisemblablement concentrique au corps du mycélium lui-même (Pl. XVIII, fig. 1); sur les coupes tangentielles, cette périodicité devient très apparente (Pl. XVIII, fig. 2).

- Une couche interne, très dense, de 100 à 120 nm, accolée contre la membrane plasmique. Aucune orientation préférentielle n'y est observée, sans qu'on puisse cependant écarter l'hypothèse d'une organisation de type périodique masquée par l'intensité du dépôt des grains d'argent.

2°) Chez les éléments mycéliens plus âgés, la paroi ne présente plus que deux couches (Pl. XVIII, fig. 2; Pl. XIX, fig. 3, 4, 5) :

- Une couche externe, identique à celle observée chez les éléments jeunes.

- Une couche interne, assimilable par sa densité et sa structure à la couche moyenne décrite précédemment.

Chaque septum comporte une lame médullaire ne présentant pratiquement aucune réactivité à la technique de détection des polysaccharides; très claire aux électrons, elle s'élargit pour former sur les coupes un ancrage triangulaire dans les parois latérales (Pl. XIX, fig. 1, 2); la base du triangle ainsi formé se situe à la limite de la couche interne et de la couche moyenne. La couche moyenne ne participe pas à la structure du septum; par contre, la couche interne s'invagine de chaque côté de la lame médullaire claire aux électrons.

Les aleuries sont caractérisées par une paroi plus épaisse que celle des hyphes et de structure différente, avec une zone juxta-cytoplasmique très riche en polysaccharides (Pl. XVI, fig. 4, 5). Cette structure particulière expliquerait la mauvaise fixation du cytoplasme dont les organites sont peu visibles, vraisemblablement par suite de difficultés de pénétration des fixateurs.

Quatrième CHAPITRE

DISCUSSION



QUATRIEME CHAPITRE : DISCUSSION.

I.- DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE.

II.- TESTS IMMUNOLOGIQUES, ETUDE CINETIQUE DES REACTIONS D'HYPERSENSIBILITE.

A.- ANALYSE DES RESULTATS DE CHACUN DES TESTS PRATIQUES.

- 1°) Anaphylaxie cutanée directe
- 2°) Intradermo-réaction à lecture tardive
- 3°) Inhibition de la migration des macrophages péritonéaux
- 4°) Inhibition de la germination

B.- CONCLUSIONS RELATIVES A L'ENSEMBLE DES TESTS EXPLORANT L'IMMUNITÉ CELLULAIRE, RAPPORTS AVEC LA RESISTANCE.

III.- ETUDE CYTOCHIMIQUE DE LA PAROI MYCELIENNE DE LA FORME SAPROPHYTE DE *Trichophyton mentagrophytes*.

A.- ANALYSE DES RESULTATS, SCHEMA SYNTHETIQUE.

B.- MECANISMES POSSIBLES CONCERNANT L'INFORMATION ET LA STIMULATION ANTIGENIQUE AU COURS DES DERMATOPHYTIES.

IV.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS.

A.- ANALYSE SEQUENTIELLE DES RESULTATS.

- 1°) Ultrastructure de l'épiderme de cobaye sain
- 2°) Localisation fongique
- 3°) Nature des cellules migrantes rencontrées dans l'épiderme.

B.- MODIFICATIONS DE L'EPIDERME ET INFILTRATION CELLULAIRE, CARACTERE IMMUNOPATHOLOGIQUE DE LA REACTION EN RELATION AVEC L'HYPERSENSIBILITE RETARDEE; SCHEMA SYNTHETIQUE.

## I.- DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE.

Nous avons rapporté, dans nos résultats, l'évolution de l'infection primaire telle que nous l'avons observée le plus fréquemment; dans une même série expérimentale, il est cependant courant d'observer des décalages de 4 à 5 jours dans l'apparition des divers stades de la maladie, suivant les animaux considérés. Ces observations confirment les résultats de nombreux auteurs et nous avons déjà envisagé ce problème dans le chapitre traitant de l'immunologie des dermatomycoses, au paragraphe concernant la résistance individuelle.

En fait, ce caractère est commun à nombre de modèles expérimentaux mycologiques pour lesquels il est en général extrêmement difficile d'obtenir une excellente reproductibilité d'un animal à l'autre (par opposition aux modèles de zoologie parasitaire qui sont très souvent standardisables quant à l'expression de la parasitose).

De même, lors de l'infection secondaire, certains cobayes n'ont présenté que des lésions macroscopiques très atténuées. Ceci est peut-être *pro parte* en relation avec le fait que dans les conditions expérimentales de nos infections secondaires, l'information antigénique est vraisemblablement différente de celle de l'infection secondaire naturelle. En effet, nos animaux sont infestés par application d'un mélange de miel et de spores de *T. mentagrophytes* obtenues sur milieu de Sabouraud; au moment de la récolte des aleuries, on recueille aussi inévitablement des fragments de milieu gélosé et des agglomérats denses de mycélium. Or, de tels échantillons sont sans doute riches en produits de métabolisme extra-cellulaires très diffusibles. Au moment de l'infestation des cobayes, on effectue donc, en plus, un dépôt d'antigène sur les téguments dans des conditions qui ressemblent à celles d'un patch-test. Dès lors, la sensibilisation cutanée est beaucoup plus rapide que dans l'infection naturelle; celle-ci nécessite en effet, pour être initiée, un début de végétation parasitaire dans la peau ou les phanères. En faveur de cette hypothèse, TAGAMI rapporte que le patch-test à la trichophytine est une méthode commode et un témoin assez fidèle du contact d'un organisme avec *Trichophyton mentagrophytes*, aussi bien chez l'homme que chez le cobaye (95).

## II.- TESTS IMMUNOLOGIQUES, ETUDE CINETIQUE DES REACTIONS D'HYPERSENSIBILITE.

Pour chacun des tests pratiqués nous discuterons, dans un premier temps, de leur signification intrinsèque. Puis, dans un second temps, nous tenterons de réaliser la synthèse des informations recueillies concernant l'immunité à médiation cellulaire dans le cadre plus général des relations hôte-parasite.

### A.- ANALYSE DES RESULTATS DE CHACUN DES TESTS PRATIQUES.

#### 1°) Anaphylaxie cutanée directe.

Cette technique, dérivée de celle initialement décrite par OVARY (70), est destinée à l'exploration des réactions d'hypersensibilité immédiate. Ce type d'hypersensibilité est à médiation humorale et procède de la présence d'anticorps tissulaires dits anticorps anaphylactisants.

L'existence de tels anticorps au niveau des téguments est révélée par une injection locale de l'antigène spécifique, faisant suite à une injection intraveineuse de bleu d'Evans. La réaction antigène-anticorps entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire au site d'injection. L'extravasation plasmique, qui en résulte, provoque une coloration locale des téguments par le bleu d'Evans fixé sur la sérumalbumine.

Nous n'avons utilisé pour cette expérimentation que des doses d'antigène très faibles, ce qui réduit la part de réactions non spécifiques dues à la toxicité de l'antigène. Les réactions témoins étaient très souvent négatives ou localisées uniquement au traumatisme réalisé par l'aiguille lors de l'injection. Enfin, nous avons exprimé nos résultats par la différence de surface dermique colorée entre les réactions produites par l'injection d'antigène et les réactions témoins lorsqu'elles existent.

Dans ces conditions, et même si l'on refuse à cette réaction tout caractère quantitatif (par rapport à la réaction d'anaphylaxie cutanée passive), la présence d'anticorps de type anaphylactique, survenant aux environs de la fin de la seconde semaine d'infection nous paraît indiscutable.

L'existence de réactions d'hypersensibilité immédiate au cours des dermatophyties est généralement niée par les auteurs, sauf dans quelques affections à *Trichophyton rubrum* (63). Nous avons voulu, dans ce qui constitue un travail très préliminaire en ce domaine, rechercher les anticorps de type anaphylactique (Ig $\gamma$ <sub>1</sub> et IgE) par une technique sensible qui, à notre connaissance, n'avait jamais été employée dans les dermatophyties expérimentales. Dans ces limites, les résultats positifs que nous avons obtenus, pour chacun des cobayes infestés depuis plus de deux semaines, sont satisfaisants. De plus, la détection tardive des anticorps anaphylactiques correspond assez bien à ce qui a été rapporté, concernant leur cinétique de synthèse, sur un plan plus général (105).

L'existence d'anticorps anaphylactisants dans les dermatophyties n'est pas surprenante, si l'on se réfère aux travaux les plus récents concernant la recherche des anticorps au cours de ces infections et aux études sur la signification des réactions d'hypersensibilité cutanée :

- L'utilisation des méthodes plus sensibles que les techniques de précipitation utilisées antérieurement a révélé que la synthèse d'anticorps circulants, en relation avec la présence d'un foyer d'infection dermatophytique, était beaucoup plus fréquente qu'on ne le pensait jusqu'alors (45,46). En ce qui concerne plus spécialement les anticorps tissulaires, PECK (80) a démontré leur présence dans les espaces intercellulaires épidermiques et COLLINS (24) a localisé des anticorps anti-kératinases dans les gaines des follicules pileux.

- L'intradermo-réaction à lecture tardive est certainement encore actuellement le test immunologique le plus fidèle de la sensibilisation d'un organisme aux antigènes dermatophytiques. Or, il s'agit là d'une réaction qui n'est que très rarement en relation exclusive avec l'hypersensibilité retardée. Les travaux de VOISIN (105) ont montré qu'en fait, se succédaient dans le temps, au site d'injection antigénique, des réactions procédant de l'anaphylaxie puis du phénomène d'Arthus et enfin de l'hypersensibilité retardée proprement dite. Ainsi, par exemple, l'augmentation de perméabilité vasculaire, que nous avons détectée pour révéler l'hypersensibilité immédiate, peut revêtir une signification totalement différente si elle est évaluée non plus un quart d'heure mais

75

une demi-heure (phénomène d'Arthus\*) ou 24 heures (hypersensibilité retardée) après l'injection antigénique.

Donc, en fonction même de la signification de l'intradermo-réaction à lecture tardive et de sa constance dans les dermatophyties, nous étions en mesure de nous attendre, en utilisant une technique assez sensible comme l'anaphylaxie cutanée directe, à l'existence de réactions d'hypersensibilité immédiate.

En fait, des interactions peuvent être mises en évidence entre les différents temps de la réaction cutanée. Ainsi, chez des sujets ne présentant que des réactions immédiates ou des réactions retardées à la trichophytine, la réaction immédiate possède parfois un effet inhibiteur envers la réaction retardée. Ainsi, l'inhibition des réactions immédiates par la chlorphéniramine révèle des réactions tardives jusqu'alors occultes chez certains sujets. Inversement, lorsque les deux réactions coexistent, l'exacerbation de la réaction immédiate, par injection simultanée d'antigène et d'histamine, provoque une diminution des réactions d'hypersensibilité retardée (53).

## 2°) Intradermo-réaction à lecture tardive. (I.D.R.).

Nous avons utilisé ce test classique au début de nos expérimentations car il nous paraissait constituer un préalable indispensable à la pratique ultérieure de tests plus modernes de l'exploration de l'immunologie cellulaire.

Nous avons pu constater d'ailleurs que nos résultats concernant l'évolution cinétique de cette réaction, décelable le IIème jour de l'infection, correspondaient assez bien avec ceux rapportés par les autres auteurs et notamment avec ceux de DE LAMATER qui a effectué une étude très complète de la question (30).

---

\* Bien que nous n'ayons pas abordé ce sujet au cours de notre travail, la probabilité pour qu'une réaction de type Arthus se manifeste au cours des dermatophyties est extrêmement faible eu égard à l'absence ou aux quantités minimales d'anticorps circulants généralement mis en évidence.

De plus, ce test nous a permis de mettre en évidence, de façon très nette, une différence de réactivité des animaux infectés vis-à-vis des deux lots d'antigène utilisés.

### 3°) Test d'inhibition de la migration des macrophages (I.M.M.).

De nombreux tests sont actuellement proposés pour évaluer l'état d'hypersensibilité retardée *in vitro*. Ils reposent sur l'étude des modifications du comportement des cellules lymphoïdes mises en présence d'antigènes responsables de leur sensibilisation. Parmi les techniques utilisables, notre choix s'est porté sur l'inhibition de la migration des macrophages mise au point par GEORGE et WAUGHAN (36) à partir de l'observation originale de RICH et LEWIS (88). Nous avons réalisé le test suivant une technique dérivée de celle de DAVID (28); en ce qui concerne sa signification à l'échelon cellulaire, il procède de la sécrétion d'un médiateur soluble lymphocytaire, le M.I.F. (Migration Inhibitory Factor) qui possède la propriété d'inhiber la migration naturelle des macrophages péritonéaux. Réputé spécifique de l'hypersensibilité retardée (98), ce test pratiqué depuis quelques années dans notre laboratoire, présentait en outre l'intérêt de s'adapter particulièrement à l'animal hôte choisi, chez lequel il donne généralement de bons résultats (64). Enfin, et surtout, bien que cette méthode fut appliquée à l'étude des mycoses profondes dès 1963 (20), elle ne s'était pas encore adressée, à notre connaissance du moins, aux dermatophyties.

Son application à notre modèle expérimental nous a appris essentiellement que la sensibilisation aux antigènes fongiques des animaux infectés, détectable à partir du 7ème jour, atteignait son maximum à la 3ème semaine, pour régresser lentement par la suite; par contre, aucune différence de réactivité n'était décelable entre les animaux réinfectés et les animaux témoins.

Ces résultats appellent un certain nombre de commentaires :

- Le premier concerne la mise en évidence très rapide (au 7ème jour) de l'hypersensibilité retardée par le test d'inhibition de la migration des macrophages alors que l'hypersensibilité retardée, recherchée *in vivo* par intradermo-réaction, n'est révélée qu'aux environs du 12ème jour (30). Cette détection précoce concorde avec les résultats antérieurement obtenus dans notre laboratoire pour des modèles expérimentaux concer-

nant des protozoaires, des helminthes et d'autres espèces fongiques (102); elle confirme la grande sensibilité du test d'inhibition de la migration des macrophages.

Dans le cas présent, cette sensibilité constitue, en fait, la seule discordance notée entre les résultats produits par ce test et par l'intradermo-réaction. En effet, c'est l'antigène métabolique qui s'est avéré le plus propice à la détection de l'H.S.R. par les deux méthodes et c'est au 21<sup>ème</sup> jour que cette dernière a atteint son maximum dans les deux cas.

Que les index de migration des animaux réinfestés ne diffèrent pas significativement de ceux des animaux témoins est un phénomène apparemment aberrant alors que l'anamnèse, lors des réponses immunologiques cellulaires, est bien établie. Il s'explique peut-être par les raisons suivantes : d'abord la démonstration des réactions anamnétiques par les tests qui permettent la mise en évidence *in vitro* de l'anamnèse reste toujours discrète quelque soit le modèle expérimental; ensuite les mycoses elles-mêmes doivent présenter des particularités biologiques qui accentuent ce caractère. DE LAMATER (30) s'était déjà étonné de l'anergie apparente aux antigènes fongiques manifestée par les animaux réinfestés. Nous reviendrons ultérieurement sur ce problème dans les commentaires concernant l'ensemble des tests utilisés.

Les modifications ultrastructurales des lymphocytes et des macrophages, au cours de ce test, ont été étudiées par SMITH et WEISS (93) ainsi que par FORTEZA et coll. (34). Nous relatons ici leurs observations puisque ces auteurs, comme nous-mêmes dans un chapitre de ce travail, ont tenté de relier certaines caractéristiques morphologiques des cellules impliquées à leur état physiologique, en relation avec l'immunité cellulaire. Mise à part l'activation des lymphocytes, qui était prévisible, deux mécanismes principaux, à l'échelon microscopique, semblent intervenir dans l'expression macroscopique de l'inhibition de la migration des macrophages. La dégénérescence d'environ 1/5<sup>ème</sup> de la population macrophagique survient en effet, d'une part; les macrophages survivants, d'autre part, se rétractent, deviennent sphériques, en émettant un très grand nombre de microvillosités qui s'engrènent avec celles des cellules voisines, et créent occasionnellement des relations de continuité.

#### 4°) Test d'inhibition de la germination. (I.G.).

La proximité des cellules lymphocytaires et des éléments fongiques dans l'épiderme de cobaye parasité, telle que nous l'avons observée en microscopie électronique, nous a conduit à rechercher l'existence d'éventuels facteurs secrétés par les lymphocytes, et cytotoxiques vis-à-vis des cellules fongiques.

Nous avons déjà rapporté (1er chapitre) que la cytotoxicité médiée par les lymphocytes était actuellement l'objet de nombreux travaux.

Parmi les différents aspects que peut revêtir ce phénomène, nous avons recherché la production de lymphotoxines car cette sécrétion, relativement facile à mettre en évidence, ne nécessite pas un contact direct lymphocyte-cellule cible (22). En effet, si les lymphocytes présents dans l'épiderme infecté sont presque inévitablement au contact de substances fongiques diffusibles, il est par contre beaucoup plus improbable qu'un grand nombre de ces cellules entrent directement au contact des éléments figurés du parasite.

Selon la terminologie de GRANGER (40) qui les a découvertes, les lymphotoxines sont des médiateurs d'origine lymphocytaire cytotoxiques pour de nombreuses cellules susceptibles. Leur production par les lymphocytes peut être déclenchée par des stimuli non spécifiques, tels certains mitogènes ou la réalisation de cultures lymphocytaires mixtes. La sécrétion de lymphotoxines peut également revêtir un caractère spécifique lorsqu'elle résulte du contact des cellules avec l'antigène responsable de leur sensibilisation. Cette dernière réaction présente un caractère immunitaire certain bien qu'il faille remarquer que la cytotoxicité ainsi induite spécifiquement n'est pas, elle, spécifique.

A notre connaissance, l'existence d'un tel facteur n'a jamais été recherché lors des dermatophyties. PEARSALL et coll. (79) ont cependant mis en évidence des lymphotoxines cytotoxiques vis-à-vis de *C. albicans* chez des souris saines. Dans ce travail, paru alors que notre expérimentation était déjà en cours, les auteurs, en effet, ont provoqué la synthèse de lymphotoxines de manière non spécifique, par culture mixte de cellules de souris allogéniques en présence de phytohémagglutinine.

Rappelons que, en ce qui nous concerne, nous avons démontré l'action cytotoxique des surnageants lymphocytaires vis-à-vis des cellules fongiques. Cette action se manifeste durant les trois premières semaines de l'infection, puis ne peut plus être démontrée par la suite. Par contre, la réinfestation se traduit par des index à nouveau significativement différents de ceux des animaux témoins.

Toutefois, une constatation s'impose : l'index moyen le plus faible que nous ayons observé (72 %) traduit une action toxique relativement minime vis-à-vis des cellules fongiques; en effet, les pourcentages de létalité des cellules cibles obtenus par d'autres auteurs, dans des domaines très différents il est vrai, dépassent généralement 50 % (35). Le fait de pouvoir disposer pour ce test d'une quantité suffisante de lymphocytes du ganglion tributaire du territoire infesté était pourtant un *a priori* très favorable. En effet, dans ces conditions, on s'adresse à une population cellulaire dont une très forte proportion est sensibilisée à l'antigène. Cette discordance avec les résultats publiés par ailleurs peut, selon nous, s'expliquer par deux ordres de faits :

Le premier concerne les imperfections techniques du test que nous avons mis au point. Les lymphotoxines constituent en effet un facteur difficile à mettre en évidence, ainsi GOGUEL et NAUCIEL (35) admettent 20 % d'échec dans un modèle pourtant privilégié pour ce genre d'études (B.C.G.).

Le second concerne plus spécifiquement notre modèle expérimental et le choix des cellules cibles : un élément fongique protégé par sa paroi rigide est sans doute moins vulnérable qu'une cellule animale nue, encore que cette paroi ne soit pas imperméable; mais, de plus, dans le cas présent, nous avons mesuré la cytotoxicité vis-à-vis des aleuries produites par les cultures du champignon parce qu'elles pouvaient être comptées. Or, par définition, ces spores, qui constituent des formes fongiques de dissémination ou de résistance, ont des métabolismes pratiquement nuls, ce qui les rend très peu sensibles aux agressions ambiantes. Nous nous proposons d'ailleurs de reprendre ultérieurement cette expérimentation avec des spores préalablement germées.

B.- CONCLUSIONS RELATIVES A L'ENSEMBLE DES TESTS EXPLORANT L'IMMUNITE CELLULAIRE, RAPPORTS AVEC LA RESISTANCE.

Rappel : tableau VII.

I°) Durant l'infection primaire.

Il est remarquable de constater que les résultats obtenus par les différentes techniques explorant l'immunologie cellulaire atteignent tous leur maximum aux environs du 21<sup>ème</sup> jour, pour régresser lentement par la suite. Or, à cette date, qui précède de 5 à 6 jours les premières guérisons spontanées, la prolifération fongique stagne déjà depuis une semaine. La corrélation est troublante entre l'existence de réactions immunologiques maximales et l'apparition de la résistance chez l'hôte infecté. Nos résultats confirment, durant l'infection elle-même, le parallélisme connu depuis longtemps entre l'état d'hypersensibilité retardée d'un hôte aux antigènes fongiques et sa susceptibilité à l'infection (15,30).

En effet, les travaux anciens, en détectant l'hypersensibilité retardée *in vivo* par intradermo-réaction, ont situé son maximum entre le 31<sup>ème</sup> et le 50<sup>ème</sup> jour. L'utilisation du test d'inhibition de la migration des macrophages, plus sensible sous certains aspects, révèle une sensibilisation effective de l'organisme nettement plus précoce mais aussi plus transitoire.

Il faut cependant se garder d'identifier l'hypersensibilité retardée, qu'elle soit détectée *in vivo* ou *in vitro*, avec l'immunité.

En effet, l'immunité à médiation cellulaire constitue une famille de réactions mettant en jeu de multiples composants et dont toutes ne se confondent pas avec des réactions de résistance (c'est ainsi qu'on peut expérimentalement provoquer l'inhibition de l'H.S.R. sans pour autant supprimer la résistance cellulaire de l'organisme). Les divers tests imaginés par les auteurs ne concernent qu'une partie des mécanismes possibles de ce type de réaction immunologique; chacun d'eux n'en révèle, de ce fait qu'une facette; d'où les discordances constatées suivant le test utilisé. Toutefois, en dépit de ces discordances, l'apparement des résultats obtenus reste souvent frappant : notons par exemple la correspondance étroite entre les valeurs des index produits par l'inhibition de la migration des macrophages et l'inhibition de la germination dont la signification, quant aux phénomènes de résistance, est plus évidente. Notons encore

que c'est aux environs du 21<sup>ème</sup> jour que se situent les maxima des 2 indices et que c'est encore à cette date que se détecte le pouvoir phagocytaire maximum des macrophages de cobaye vis-à-vis des spores de *T. mentagrophytes*, autre test d'appréciation de l'immunité cellulaire, d'ailleurs trop incomplètement exploré pour que nous en fassions plus longuement mention.

## 2°) Durant l'infection secondaire.

Il est certes surprenant de ne pas assister à une inhibition exacerbée de la migration des macrophages lors de la réinfestation. Nous avons déjà signalé au paragraphe précédent que le test utilisé pouvait être, pour une part, responsable de ce phénomène.

Suivant DE LAMATER (30), une réinfestation réalisée sur une zone épidermique ayant été antérieurement parasitée par un dermatophyte pyogène, provoque une réaction inflammatoire et une durée d'infection beaucoup plus réduites que si cette nouvelle inoculation est opérée sur un territoire épidermique du même animal, mais situé à distance de la lésion initiale et, par conséquent, vierge de tout contact avec le champignon.

D'autre part, et toujours suivant le même auteur, les intradermo-réactions réalisées sur les zones antérieurement parasitées ne persistent que 7 à 8 jours alors que pour des sites d'injection situés en dehors de ces zones, chez le même animal, les réactions sont encore visibles après 15 à 16 jours. Tout se passe donc comme si la peau qui a été parasitée acquerrait la faculté de réagir localement de façon moins intense, en apparence du moins, mais à coup sûr plus efficace vis-à-vis de la surinfestation.

Or, nous réalisons des infestations homolatérales et détectons l'hypersensibilité retardée par voie générale, par le test d'inhibition de la migration des macrophages péritonéaux. En se référant aux travaux que nous venons de citer, il paraît concevable que les réactions locales parviennent à juguler le développement parasitaire, avant que l'on en arrive à un stade de sensibilisation de l'organisme entier, qui soit détectable par la méthode utilisée.

Un argument complémentaire en faveur de cette hypothèse nous est apporté par les résultats obtenus, lors de la réinfestation, par le test d'inhibition de la germination; en effet, bien que nous ayons déjà signalé qu'il est moins sensible que le test d'inhibition de la migration des macrophages, il permet de mettre néanmoins en évidence une réponse de type anamnétique. Ceci laisse donc supposer une sensibilisation beaucoup plus importante des lymphocytes ganglionnaires par rapport aux lymphocytes péritonéaux car elle est à même de compenser la moins grande sensibilité de ce test par rapport à celui de l'inhibition de la migration des macrophages. Les processus se déroulant chez l'animal parasité, et nous ayant conduit à réaliser cette observation, sont sans doute beaucoup moins schématiques que ceux que nous proposons ici, mais, dans les limites de sensibilité des tests utilisés, ces résultats sont intéressants dans la mesure où ils peuvent être interprétés comme la manifestation de réactions immunitaires à caractère local.

DE LAMATER, auquel nous avons déjà fait référence, pense que l'immunité locale est due à "des processus immunologiques qui se développent moins rapidement dans les zones n'ayant pas été en contact avec le champignon".

Cette résistance plus élevée et circonscrite ne correspond pas aux concepts classiques de l'immunologie selon lesquels les cellules ou les anticorps, circulant dans l'organisme, sont à même de produire une réponse identique en tout point de celui-ci. Il a été démontré, par ailleurs, que les cellules responsables du caractère anamnétique des réponses immunitaires sont les T. lymphocytes à vie longue (27) et que ces cellules sont l'objet d'une recirculation permanente. Nous suggérons qu'ici certaines cellules mémoires demeurent au niveau du territoire antérieurement parasité. Leur présence *in situ* entraînerait en cas de réinfestation locale une réponse immunitaire quasi instantanée; celle-ci aurait pour corollaire une élimination particulièrement rapide du champignon. Dans ces conditions, l'intense réaction inflammatoire qui résulte d'une forte sensibilisation de l'organisme et qu'on observe chez le même animal dans les zones d'infestation contralatérales pourrait être court-circuitée.

Plus schématiquement, au cours de ce travail, nous avons donc remarqué que les lymphocytes du ganglion tributaire du territoire infecté réagissaient plus à la stimulation antigénique que ceux obtenus dans la cavité péritonéale. Cette constatation constitue un argument en faveur de la localisation de la résistance. Nous nous efforçons actuellement de préciser l'existence et l'intervention de cellules mémoires tissulaires dans ces manifestations d'immunité à expression locale. Nos premiers résultats dans cette voie sont encourageants.

### III.- ETUDE CYTOCHIMIQUE DE LA PAROI MYCELIENNE DE *Trichophyton mentagrophytes*.

#### A.- ANALYSE DES RESULTATS, SCHEMA SYNTHETIQUE.

L'étude ultrastructurale de la paroi des dermatophytes (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton mentagrophytes*) a montré qu'elle est constituée de plusieurs couches (58, 86, 14, 96, 108, 109, 52, 99, 82, 94). L'aspect de cette paroi peut varier suivant la technique de préparation des coupes, notamment chez *Epidermophyton floccosum* (58, 108) et *Trichophyton rubrum* (14, 96). Cependant, l'image la plus souvent rencontrée est celle d'une lame externe dense aux électrons, plus ou moins discontinue, accolée à une lame interne plus claire et plus épaisse.

En ce qui concerne la structure chimique des parois, on sait qu'elles renferment notamment de la chitine (11), des glucoses, mannoses et galactoses, ainsi que des peptides et des lipides (76, 55). Le travail de KITAZIMA et coll.,<sup>(55)</sup> dont l'interprétation est malheureusement parfois malaisée, a judicieusement associé des techniques biochimiques et ultra-microscopiques. L'analyse des extraits pariétaux, effectuée dans des conditions variées, a été accompagnée en effet de l'étude ultrastructurale des résidus effectuée après ombrage. Les auteurs ont ainsi apporté quelques précisions sur la structure et la composition chimique de 3 couches différentes :

- Une couche externe rugueuse, formée de fibrilles courtes et épaisses, alcalo-insolubles et acido-solubles, associées à des pigments éliminables par extraction alcaline.

- Une couche médiane formée de fibrilles courtes (ou "de substance cristalline"), ayant un diamètre de 100 Å et composées de sous-unités; leur nature est chitineuse; autour de ces structures seraient situés les glucannes.

- Une couche interne, pauvre en protéines, formée de longues microfibrilles de 200 Å de diamètre, constituées d'hétéropolysaccharides et de peptides et disposées au hasard dans une matrice alcalosoluble de galactomannanes types I-6 et I-2, et pauvre en protéines.

Parallèlement, la réactivité immunologique de polysaccharides de type glucanne et galactomannane I et II, obtenus par extraction aqueuse de *Trichophyton mentagrophytes*, et très vraisemblablement d'origine pariétale, a été étudiée à l'aide d'hyperimmunsérums de lapin et de sérums de malades atteints de dermatophyties (42, 44).

Le présent travail, appliquant une réaction cytochimique de mise en évidence des polysaccharides sur coupes ultrafines de mycélium de *Trichophyton mentagrophytes* apporte quelques informations nouvelles sur la structure de la paroi des dermatophytes. En effet, la réaction de Thiery nous a permis, tout en nous entourant du maximum de réactions témoins, de différencier les couches pariétales réagissant de façon distincte en fonction de leur richesse en polysaccharides et d'en préciser parfois la structure fine. A partir des observations effectuées, nous proposons les interprétations suivantes (Tableau VIII).

La paroi des hyphes de *T. mentagrophytes* apparaît formée de 3 couches distinctes :

- Une couche externe, d'épaisseur variant entre 40 et 80 nm., pelucheuse, discontinue, visible après simple contraste à l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb. Après réaction de Thiery, cette couche semble assez pauvre en polysaccharides; elle est formée de microfibrilles d'environ 300 Å de diamètre. Certaines de ces microfibrilles possèdent une structure du type double membrane, ce qui confirme les constatations de URABE (1969).

## TABLEAU VIII

Schéma de la structure de la paroi mycélienne de *T. mentagrophytes* après réaction de Thiery (24 h d'action du T.C.H.).

La figure A représente une hyphe jeune; la figure B une hyphe sénescence.

La figure A permet de distinguer 3 couches successives constituant les parois latérales :

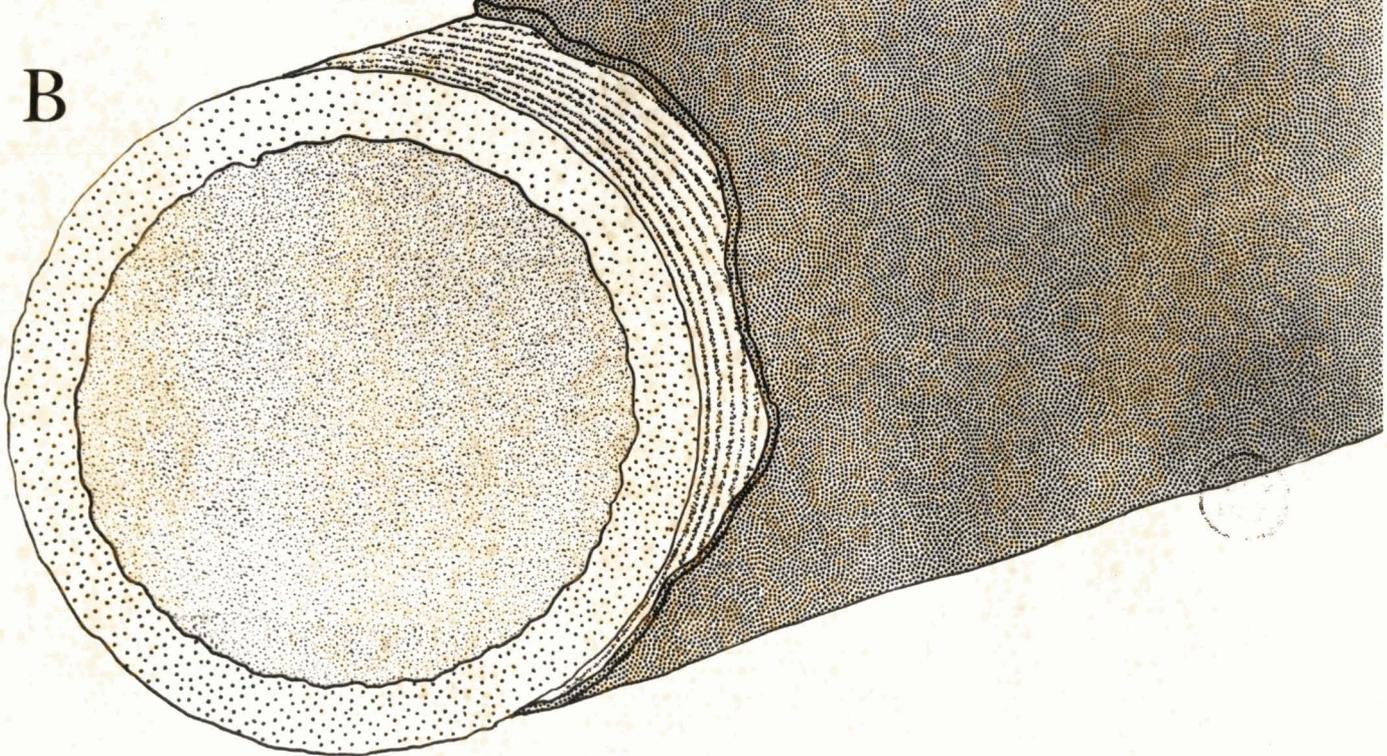
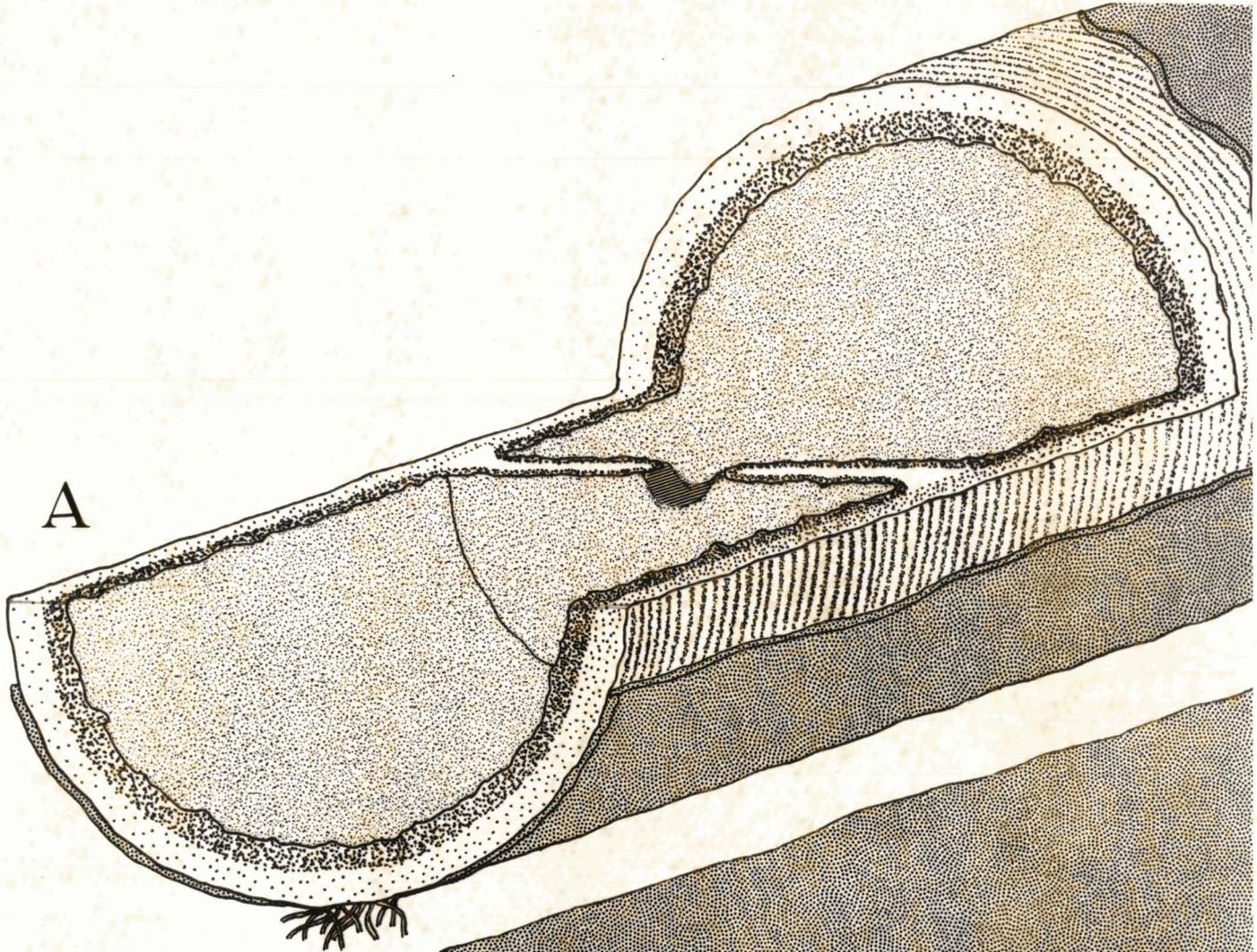
- Une couche externe, de réactivité moyenne, contenant des microfibrilles du type double membrane, qui apparaissent à la partie inférieure du dessin A figurant une coupe tangentielle.

- Une couche moyenne présentant, tout au moins en surface, une périodicité de 200 Å, constituée vraisemblablement en partie de chitine incluse dans une matière réagissant plus fortement.

- Une couche interne où il semble bien que l'on puisse situer les galactomannanes I-6 et I-2 connus pour leur forte immunogénicité; cette couche disparaît lorsque la cellule fongique vieillit (fig. B).

Quant à la lame moyenne du septum schématisée en A, elle présente une réactivité nulle à la réaction de Thiery et se distingue de ce fait des autres constituants pariétaux.





- Une couche moyenne de 80 à 100 nm, d'épaisseur, présentant une périodicité dont nous n'avons pas trouvé de relation dans la littérature. La périodicité observée est de 200 Å environ, soit deux fois le diamètre des fibres observées par KITAZIMA et coll. au même niveau. Mais cette divergence apparente résulte vraisemblablement de l'inclusion de microfibrilles de diamètre voisin de 100 Å, à faible réactivité, au sein d'une matrice riche en polysaccharides de forte réactivité. Le fait que ces fibrilles paraissent très peu sensibles à l'oxydation périodique est en faveur de leur nature chitineuse (97, 21) et confirme les résultats que KITAZIMA et coll. ont obtenus par une technique différente.

L'orientation des microfibrilles sur les coupes tangentielles ou obliques suggère une disposition régulière et concentrique au corps mycélien.

- Une couche interne, très riche en polysaccharides neutres, de 100 à 120 nm, d'épaisseur, rencontrée seulement dans les éléments mycéliens en activité métabolique intense. La forte réaction de Thiery engendrée à son niveau ne permet pas d'en apprécier la structure fine. Sa disparition chez les éléments sénescents laisse apparaître une structure indifférenciable de la couche moyenne. Il s'agit donc là, très vraisemblablement, de polysaccharides labiles dont la présence est liée à l'activité de la cellule fongique. POCK-STEEN, en 1970, avait déjà noté chez *T. mentagrophytes* la présence inconstante de la couche interne de la paroi. La disparition de ces polysaccharides pariétaux faisant suite au vieillissement cellulaire pourrait expliquer la présence de substances polysaccharidiques du même type dans les extraits aqueux de dermatophytes (42, 44) et dans la trichophytine, qui n'est qu'un filtrat de culture âgée de *T. mentagrophytes* (26, 3). A l'appui de cette hypothèse, on peut ajouter que les substances hautement immunogènes isolées par GRAPPEL et coll. <sup>(42,44)</sup> sont des galactomannanes type I-2 et I-6, substances que KITAZIMA et coll. (1972) situent dans la couche la plus interne de la paroi, pour laquelle nous constatons une disparition de matériel polysaccharidique au cours du vieillissement cellulaire.

Si on admet, comme il est très vraisemblable, qu'au cours de sa vie parasitaire, le champignon subit une évolution similaire, les mêmes polysaccharides libérés dans la couche cornée de l'épiderme doivent être à l'origine d'une information antigénique : celle-ci déclencherait certaines des réponses immunologiques dont il est fait état dans la littérature (45).

Cette observation revêt également une grande importance en ce qui concerne la standardisation des antigènes utilisés pour des études immunochimiques. Ainsi, en 1972, HOW (50), dans un travail par ailleurs très intéressant, s'étonne des changements importants de la teneur en glucane de *T. rubrum* cultivé en surface ou immergé. Il relie les différences de composants allergéniques ainsi observées "aux paramètres nutritionnels et physiques". Quant à nous, étant donné que cet auteur précise dans un chapitre précédent qu'il s'est adressé à des cultures respectivement âgées de 3 semaines et de 6 jours, nous pensons qu'un phénomène analogue à celui que nous observons pour *T. mentagrophytes* a pu se produire : à savoir que les polysaccharides de cultures jeunes sont beaucoup moins facilement libérés dans le milieu que ceux de cultures plus âgées.

Enfin, notre technique nous a permis de mettre en évidence une différenciation très nette de structure au niveau de la lame moyenne des septa, qui, contrairement aux couches précédemment énumérées, ne réagit que très peu au T.C.H. L'existence de constituants différents au niveau des septa pourrait avoir une incidence sur la composition biochimique totale des parois mycéliennes, qui mérite d'être considérée.

Ces résultats nous amènent à discuter sur un plan plus général des :

#### B.- MECANISMES POSSIBLES CONCERNANT L'INFORMATION ET LA STIMULATION ANTIGENIQUE AU COURS DES DERMATOPHYTIES.

Plusieurs hypothèses sont envisageables et, dans l'état actuel de nos connaissances, elles apparaissent toutes vraisemblables.

1°) Contact direct entre les éléments fongiques et les cellules immunologiquement compétentes.

Bien que les dermatophytes soient décrits classiquement comme se développant uniquement dans les cellules mortes de l'organisme, ce contact ne peut être exclu de façon formelle. Lors d'infestations massives de follicules pileux, notamment, le feutrage mycélien n'est séparé du derme que par trois ou quatre couches de kératinocytes. Nous avons nous-mêmes observé du mycélium à l'intérieur de glandes sébacées. Ce contact pourrait être établi lors des stades précoces de l'infestation avant l'initiation d'une réponse immunitaire spécifique; c'est lui qui pourrait prélude, dans certains cas, à la formation des granulomes dermiques rapportée dans la littérature (6, 63).

Notons encore, en faveur de cette hypothèse, le fait que les réactions immunologiques engendrées sont essentiellement à médiation cellulaire; or, on sait que cette réponse est souvent déclenchée par des antigènes figurés à la suite de leur phagocytose par les macrophages (47).

Par contre, l'expérimentation remarquable de KEENEY (54), réalisée, certes, *in vitro* a montré que l'activité fongistatique du sérum interdit au dermatophyte tout développement dans les tissus vivants de l'hôte.

2°) Action des produits de métabolisme.

Même si l'hypothèse précédente était vérifiée, le mode d'information et/ou de stimulation antigénique qu'elle concerne ne serait évidemment pas exclusif. De toute façon, c'est en faveur du rôle joué par les produits de métabolisme, agissant après leur diffusion dans les tissus, que plaident le plus d'arguments convaincants.

Nous avons déjà évoqué précédemment (89), le parallélisme existant entre la pathogénicité d'une souche, la sévérité et la durée de l'infection qu'elle détermine d'une part et l'antigénicité de ses enzymes d'autre part.

Les enzymes dermatophytiques les mieux étudiés sont les kératinases, contre lesquelles COLLINS aurait mis en évidence des anticorps tis-

sulaires (24); plus convaincante est la démonstration de GRAPPEL (46) qui montre que les kératinases I et II entraînent chez le cobaye infecté des réactions d'hypersensibilité retardée aussi intenses que celles obtenues par des quantités 100 fois plus importantes de trichophytine.

Notre travail permet également de montrer l'importance des produits de métabolisme sur le plan de la stimulation antigénique; nous avons, en effet, constaté une différence très significative sur le plan statistique ( $p < 10^{-4}$ ) entre les index de migration des macrophages obtenus chez des animaux infestés, avec des concentrations identiques de l'antigène métabolique et somatique. Cette action différencielle fut mise en évidence durant les 1ère et 3ème semaines de l'infection, c'est-à-dire lorsque les index sont eux-mêmes les plus significatifs par rapport à ceux des animaux témoins. La pratique de l'intradermo-réaction nous a permis d'aboutir à des résultats identiques. Bien sûr, les antigènes utilisés sont très complexes, sûrement souillés de substances non ou très peu antigéniques et ils diffèrent certainement, au moins quantitativement,

de ceux qui sont libérés au cours de la phase parasitaire. Cependant, ces résultats démontrent néanmoins que les produits de métabolisme sont à l'origine d'une sensibilisation plus importante des cellules lymphocytaires que les constituants somatiques.

### 3°) Action des constituants somatiques.

Les études sur la structure antigénique des dermatophytes, réalisées à l'aide de sérums hyperimmuns ou de sérums d'animaux infectés ont permis de montrer l'importance prépondérante des constituants glycopeptidiques et polysaccharidiques (1er chapitre, III, paragraphe E).

De par leur structure, certains de ces constituants sont manifestement d'origine pariétale. Notre travail sur la cytochimie des parois de *T. mentagrophytes* a permis de montrer que des polysaccharides pariétaux étaient émis dans le milieu au cours du vieillissement cellulaire. Comme nous l'avons déjà signalé, la trichophytine utilisée pour les intradermo-réactions est préparée à partir de cultures âgées, en sorte que ses constituants antigéniques nombreux concernent non seulement les produits de métabolisme du champignon vivant mais encore des produits de dégradation ou lyse parmi lesquels figurent *pro parte* des polysaccharides pariétaux du type de ceux que nous avons mis en évidence.

Si on admet qu'un phénomène similaire se réalise *in vivo*, et c'est très vraisemblable, il est logique de penser que ces polysaccharides labiles, diffusant dans les couches cornées de l'épiderme, président à une information antigénique. Ceci pourrait expliquer les résultats de nombreux travaux et notamment le fait que GRAPPEL ait pu déceler, par agglutination passive, des anticorps dirigés contre des glucannes et des galactomannanes au cours de dermatophyties humaines.

En faveur également de ce mécanisme, signalons enfin que les anticorps anti-carbohydrates ne sont révélés que lors d'infections de longue durée (à *T. rubrum* par exemple) qui sont compatibles avec la libération de constituants pariétaux par du mycélium vieilli ou mort.

#### IV.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS.

##### A.- ANALYSE SEQUENTIELLE DES RESULTATS.

###### I°) Ultrastructure de l'épiderme de cobaye sain.

Nous avons retrouvé, au cours de cette étude, toutes les caractéristiques du tissu épidermique telles qu'elles ont été décrites dans les très nombreux travaux consacrés à ce sujet. La microscopie électronique a en effet beaucoup contribué à la connaissance du processus de kératinisation (117,72). Elle a permis de suivre le devenir d'une cellule, mitotiquement active, contenant une grande variété d'organites, se transformant progressivement en une cellule remplie d'un matériel protéique complexe et homogène : la kératine. Tout au long de cette évolution qui conduit une même cellule à passer par différents stades caractérisant les couches épidermiques (*stratum germinativum*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum corneum*), l'étude ultrastructurale a précisé

le rôle de divers organites caractéristiques des kératinocytes. Il s'agit là de données désormais classiques que nous rappelons brièvement :

- Les tonofilaments : présents dans le cytoplasme des kératinocytes dès la couche germinative, constitueraient les précurseurs des fibrilles d'alpha-kératine disposées sans orientation préférentielle dans les écailles cornées du *stratum corneum* (19, 117, 71, 72).

- La kératohyaline : elle apparaît dans les cellules du *stratum granulosum* où elle se trouve très souvent en contact étroit avec les tonofilaments. Selon MATOLTSY (71), la kératohyaline, s'infiltrant dans les espaces interfilamentaires et assurant la cohésion des fibrilles par formation de ponts disulfure, constituerait le précurseur de la matrice des cellules du *stratum corneum*, au sein de laquelle sont disposées les fibrilles de kératine.

- Les kératinosomes : ils apparaissent durant les derniers stades de la différenciation cellulaire épidermique (au niveau du *stratum spinosum*), par la suite, ils présentent des relations de contiguité étroite avec la membrane cytoplasmique et sont parfois retrouvés au niveau des espaces intercellulaires. MATOLTSY (70) pense que les kératinosomes interviennent dans l'épaississement du plasmalème préluant à la formation de l'enveloppe des cellules cornées. Pour WEINSTOCK (106) par contre, la présence d'une activité phosphatase acide à leur niveau indiquerait que les kératinosomes jouent un rôle dans la dissociation des cellules cornées qui se traduit par le phénomène classique d'exfoliation épidermique.

En ce qui concerne les cellules de Langerhans, qui font partie intégrante de l'épiderme sain, il était essentiel, au cours de ce travail, de ne pas les confondre avec des cellules dont la localisation épidermique est liée exclusivement aux modifications des téguments parasités. En ce sens, les granules caractéristiques répartis en grande densité dans le cytoplasme, et occasionnellement l'aspect typique de certains de leurs organites, nous ont fourni des critères d'identification généralement suffisants. Ceci reste vrai, même aux grossissements assez faibles que nous

avons utilisés pour cette étude; soulignons cependant qu'une erreur d'interprétation de notre part ne saurait être exclue de façon formelle.

En dépit d'investigations poussées (18,117), de nombreuses inconnues subsistent concernant l'origine et le rôle des cellules de Langerhans. Certains auteurs les considèrent comme des cellules neuro-hormonales en fonction de leur affinité pour les colorants électifs des tissus nerveux; pour d'autres auteurs, elles feraient partie de la lignée mélanocytaire dans la mesure où mélanosomes et granules de Langerhans peuvent être observés à l'intérieur d'une même cellule.

D'un point de vue fonctionnel, il est établi que les granules de Langerhans quittent la zone du Golgi, dans laquelle ils sont les plus nombreux, pour s'accoler à la membrane plasmique et s'ouvrir ensuite dans les espaces intercellulaires. L'analogie est frappante avec l'évolution des kératinosomes que nous avons évoquée précédemment; cependant, la fonction ainsi réalisée par les granules de Langerhans reste ignorée.

Signalons également, dans ce cadre, un phénomène de convergence assez remarquable avec certaines cellules immunologiquement compétentes. Il existe, en effet, un certain nombre de maladies à l'étiologie mal connue, regroupées sous le nom d'histocytose X (5,7). Elles se caractérisent, à l'échelon cellulaire, par l'existence de volumineuses cellules histocytaires au sein de granulomes craniens, pulmonaires, etc... La microscopie électronique a permis d'objectiver dans le cytoplasme de ces histocytes des granules, identiques à ceux des cellules de Langerhans et souvent situés à proximité du plasmalemme. Cette observation est très intéressante; malheureusement, dans les deux cas, aucune liaison n'a pu être établie entre l'existence de ces granules dans les cellules normales de l'épithélium, d'une part, et dans certaines cellules histocytaires pathologiques, d'autre part.

## 2°) Localisation fongique.

### Durant l'infection primaire.

Nous avons déjà remarqué, lors d'une précédente étude, la constance de la localisation des éléments fongiques à l'intérieur des

cellules du *stratum corneum*. Ces résultats concordent avec ceux d'HETERINGTON (50). Nous avons cependant évoqué, à cette époque, la possibilité d'une différenciation enzymatique au niveau de l'apex des hyphes leur permettant de pénétrer à l'intérieur des cellules cornées, alors que les enzymes secrétées par les autres parties du mycélium semblent incapables de porter atteinte à l'intégrité de l'enveloppe des cellules du *stratum corneum*. Des travaux récents semblent confirmer qu'une sécrétion d'enzymes plus importante soit un caractère physiologique courant des structures apicales des champignons filamenteux (23).

#### Durant l'infection secondaire.

Dans le cas d'une infestation homolatérale, les données de la littérature précisent que le champignon n'est isolé que très rarement des lésions (64). Nos résultats confirment ces données; le développement très réduit du dermatophyte qui reste cantonné aux parties les plus superficielles des couches cornées reflète, en quelque sorte, la résistance opposée par l'hôte à l'envahissement de ses téguments.

Remarquons à nouveau, comme nous l'avons déjà fait en ce qui concerne le déroulement de l'infection, que la réponse secondaire de l'hôte est très certainement accélérée par le dépôt sur la surface cutanée de matériel fortement antigénique. Dans les conditions naturelles, contrairement à ce que nous observons, un début de végétation du dermatophyte doit très certainement se manifester avant l'initiation de la réaction de rejet du parasite.

#### 3°) Nature des cellules migrantes rencontrées dans l'épiderme.

Nous avons signalé à plusieurs reprises, qu'il nous fut souvent malaisé d'identifier les cellules mononucléaires, localisées dans l'épiderme. Ceci pour trois raisons principales : d'abord parce que leurs morphologies sont souvent assez voisines, ensuite parce que seules de très minces portions de leur corps sont intéressées par la coupe, enfin parce que les réactions de cytochimie ultrastructurale, qui donnent d'ailleurs généralement des résultats décevants *in vivo*, sont d'une complexité qui interdit de les utiliser pour une analyse de routine de grands échantillons.

Pour déterminer la nature de ces cellules, nous avons eu recours aux critères morphologiques que nous avons tenté de classifier dans le chapitre bibliographique concernant les structures et les fonctions des cellules du système immunitaire.

Ainsi, il nous a été relativement aisé de reconnaître les macrophages, les plasmocytes et certains monocytes. Par contre, il ne nous a pas été possible de distinguer, par leur ultrastructure, les deux catégories fonctionnelles de lymphocytes B et T. Cette distinction est déjà relativement difficile *in vitro* : réalisable grâce à la mise en évidence des immunoglobulines de membrane des lymphocytes de type B par immuno-marquage, à la peroxydase ainsi que par des critères morphométriques (61,62), elle devient impossible par cette dernière technique, lorsque l'on s'adresse à des cellules activées.

Selon VAN FURTH (101), les seuls lymphocytes présents dans les infiltrats cutanés sont les lymphocytes thymo-dépendants.

La différenciation de lymphocytes au repos de lymphocytes transformés par suite d'un contact avec l'antigène auquel ils sont sensibilisés est par contre relativement facile (60). Ce sont ces dernières cellules que nous avons rencontrées le plus fréquemment, bien qu'à ce stade leur aspect se rapproche de celui des monocytes.

B.- MODIFICATIONS DE L'EPIDERME ET INFILTRATION CELLULAIRE; CARACTERE IMMUNOPATHOLOGIQUE DE LA REACTION EN RELATION AVEC L'HYPERSENSIBILITE RETARDEE, SCHEMA SYNTHETIQUE.

Il est logique de penser que les modifications de l'épiderme parasité ont, pour le moins, deux causes différentes bien qu'indissociables : l'action traumatique, spoliatrice et toxique du parasite, d'une part, et les réactions de défense engendrées par l'organisme au lieu de localisation parasitaire d'autre part; celles-ci dépassant leur objectif peuvent prendre un caractère immunopathologique. Nous n'envisagerons ici que la participation des réactions de défense.

Les descriptions anatomopathologiques des teignes suppurées rapportent généralement l'existence d'une infiltration cellulaire intense du derme et de l'épiderme sous son aspect global (8,56). A notre connaissance, aucun travail de microscopie électronique n'a concerné ce problème; par contre, dès 1960, de nombreux travaux d'immunologie cellulaire ont porté sur l'étude ultrastructurale des réactions immunologiques cellulaires au niveau cutané, qu'il s'agisse d'intradermo-réaction (112,114) de rejets de greffe (111) ou d'hypersensibilité de contact (107). La parenté existant entre les descriptions de ces auteurs et les faits que nous avons observés méritait une analyse d'autant plus précise que l'immunité à médiation cellulaire intervient classiquement pour une large part dans les phénomènes de résistance aux dermatophytes (15,30).

Ces ressemblances concernent la localisation et la nature des cellules infiltrées ainsi que les altérations de l'épiderme concomitantes. Nous en discuterons d'abord avant de nous attacher aux particularités de notre modèle expérimental.

Les cellules infiltrées sont localisées exclusivement dans les espaces intercellulaires apparus dans l'épiderme.

Dans leur sein, les cellules mononucléaires prédominent, les polynucléaires n'étant observées qu'exceptionnellement (107,111,112,114). Les monocytes constituent le contingent cellulaire le plus nombreux, suivis des lymphocytes et de rares plasmocytes. Les lymphocytes se présentent sous forme de lymphocytes activés; comme WIENER (112), qui a finalement conclu que les cellules intervenant lors d'un rejet de greffe cutanée chez le lapin présentaient une morphologie intermédiaire entre le lymphocyte et le monocyte, il nous a été souvent très difficile de différencier ces deux types de cellules. La présence des macrophages semble être caractéristique des stades plus tardifs de la réaction (112).

Les altérations de l'épiderme présentent des variations d'intensité; elles sont assez logiquement beaucoup plus importantes lors de rejets de greffe cutanée (111) où les kératinocytes sont les véritables cellules cibles de la réponse immunitaire, que lors des réactions d'hypersensibilité de contact (107). Mais indépendamment de ce cas, tous les auteurs ont rapporté des degrés dans les lésions cutanées concernant l'altération des mitochondries, la perte des tonofilaments, la formation de vacuoles à

l'intérieur des kératinocytes et l'apparition de ruptures du cytoplasme à proximité de desmosomes réunissant des cellules épidermiques distendues.

Pour les auteurs, les relations qui existent entre la présence des cellules infiltrées et les altérations de l'épiderme sont étroites, dans la mesure où les kératinocytes montrent souvent des images de lyse, au voisinage des cellules mononucléaires. Selon WYLLIE, l'activité toxique des cellules infiltrées paraît moins évidente, cet auteur n'en note pas moins une concordance troublante entre l'oedème intracellulaire de certaines cellules épidermiques et le contact de ces mêmes cellules avec des macrophages (114).

A la lumière de travaux plus récents, le fait que la cytotoxicité puisse revêtir un caractère non spécifique lorsqu'elle est médiée par les lymphocytes (lymphotoxines) ou les macrophages (macrophages activés) (22) constitue un argument en faveur d'une relation entre la présence de cellules immunologiquement compétentes et les altérations concomitantes de l'épiderme.

En ce qui concerne les lymphotoxines, nous avons mis en évidence leur sécrétion par les lymphocytes ganglionnaires d'un animal infecté confrontés avec l'antigène dermatophytique (test d'inhibition de la germination). Or, les lymphocytes observés entre les cellules épidermiques ont les caractéristiques de cellules activées, c'est-à-dire de cellules à même de produire ces médiateurs ainsi qu'il a été démontré par GRANGER (40). Notons enfin que les cellules épithéliales sont parmi les cellules les plus sensibles à la lymphotoxicité.

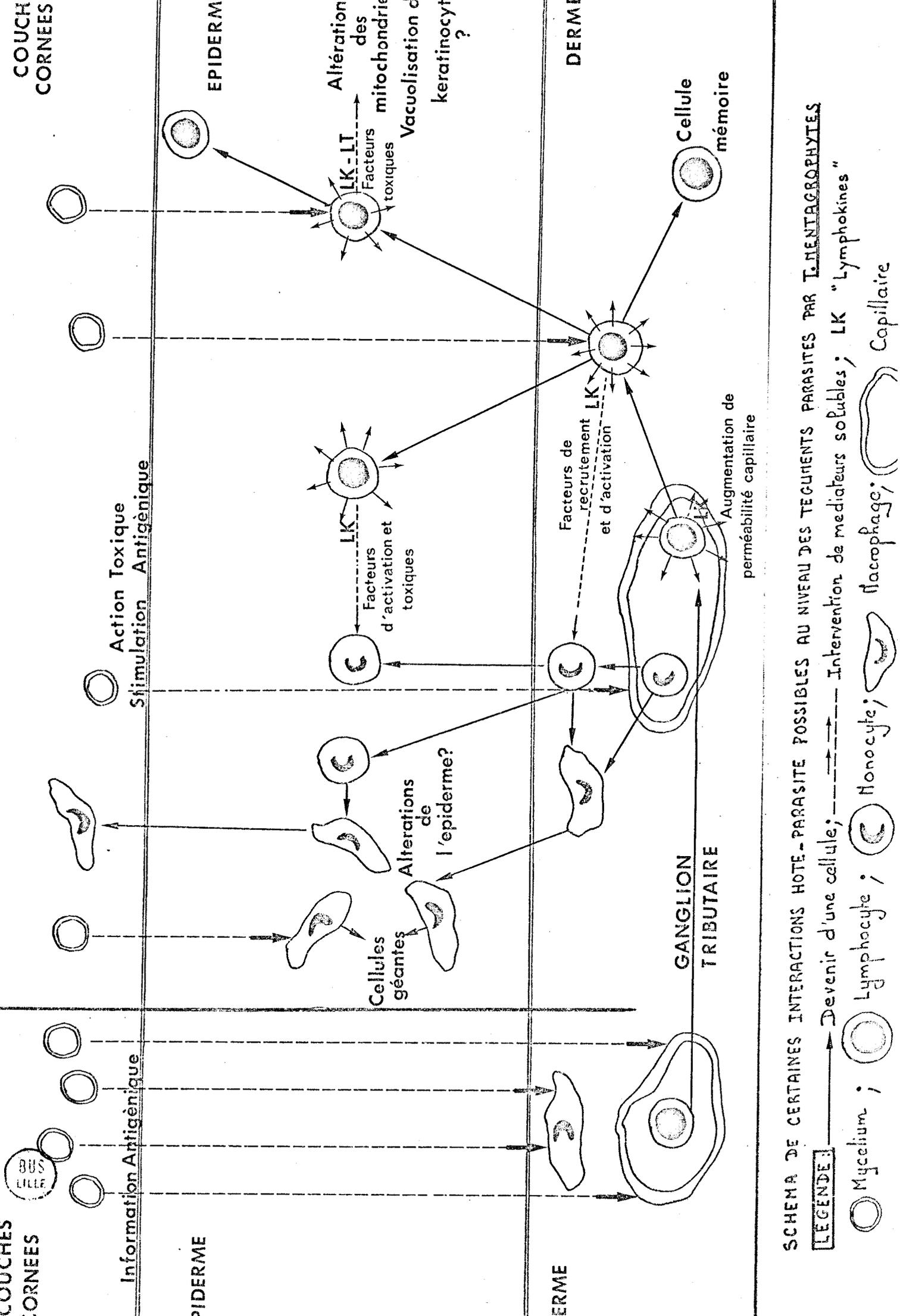
Quant aux macrophages, insérés entre les cellules épidermiques, ils présentent fréquemment une forte densité d'organites dans leur cytoplasme, ainsi que des aspects extrêmement tourmentés de leur plasmalemme. Nous avons déjà discuté, à propos de l'interprétation à l'échelon moléculaire du test de l'inhibition de la migration des macrophages, du sens de ces caractéristiques cytologiques que nous avons d'ailleurs observées antérieurement au laboratoire dans d'autres modèles expérimentaux; elles semblent traduire de façon assez probante une activation des macrophages en relation avec l'hypersensibilité de type retardé. (103)

La parenté que nous venons d'envisager entre certaines des modifications de l'épiderme de cobaye parasité et celles dépendant d'une réaction d'hypersensibilité retardée cutanée nous incite à proposer un schéma original des relations hôte-parasite qui constitue une adaptation *pro parte* de nos connaissances actuelles des réactions d'hypersensibilité retardée aux particularités de notre modèle expérimental, tout spécialement en ce qui concerne l'information antigénique et l'évolution des cellules infiltratives (Tableau IX).

Après avoir insisté sur les points communs entre les faits que nous avons observés et les descriptions ultrastructurales des réactions d'hypersensibilité retardée cutanées fournies par les auteurs, nous discuterons maintenant des discordances que nous avons notées :

La première concerne la proportion relative des macrophages parmi les cellules infiltrées. Leur proportion est beaucoup plus considérable dans notre expérimentation que dans celle de WIENER (112). Mais les observations de cet auteur n'ont pas dépassé 48 heures. Or, il fait lui-même la remarque que la présence des macrophages est caractéristique des stades tardifs de la réaction d'hypersensibilité. Comme dans la teigne expérimentale du cobaye la stimulation antigénique produite par la végétation parasitaire se prolonge plusieurs jours, un afflux plus important de macrophages dans l'épiderme paraît logique.

Pour WYLLIE<sup>(114)</sup>, la corrélation entre la présence d'oedème intracellulaire dans les kératinocytes et la contiguité de ces mêmes kératinocytes avec des cellules macrophagiques est telle qu'il évoque la possibilité d'une relation de cause à effet. Dans notre travail, la présence de cellules épidermiques vacuolisées au sein de plages épidermiques dépourvues d'infiltrats cellulaires (Pl. VI), ainsi que de zones très altérées où tous les kératinocytes montrent divers stades de vacuolisation, n'autorise pas une conclusion identique. L'aspect des lésions nous incite à penser que la scuffrance des kératinocytes résulte de la diffusion à leur niveau de substances toxiques élaborées à distance par le champignon ou plus vraisemblablement par les lymphocytes activés (lymphotoxines). Il est possible occasionnellement -certaines images le suggèrent (Pl. X, fig. I)- que le passage d'une cellule migrante entraîne, par un traumatisme mécanique, une rupture membranaire et l'extériorisation du contenu d'une vacuole préformée.



COUCHES CORNEES

COUCHES CORNEES

Action Toxique Stimulation Antigenique

Information Antigenique

EPIDERM

EPIDERM

Alteration des mitochondries  
Vacuolisation  
keratinocytes?

LK-LT  
Facteurs toxiques

LK  
Facteurs d'activation et toxiques

Alterations de l'epiderme?

Cellules géantes

DERMI

DERMI

Facteurs de recrutement LK et d'activation

GANGLION TRIBUTAIRE

Cellule mémoire

Augmentation de perméabilité capillaire

SCHEMA DE CERTAINES INTERACTIONS HOTE-PARASITE POSSIBLES AU NIVEAU DES TEGUMENTS PAR T. HENTAGROPHYTES

LEGENDE:

→ Devenir d'une cellule; --- Intervention de mediateurs solubles; LK "Lymphokines"

○ Mycelium ; ○ Lymphocyte ; ○ Monocyte ; ○ Macrophage ; ○ Capillaire

## TABLEAU IX

La partie gauche du schéma représente le début de la végétation parasitaire, à un stade suffisant pour induire une information antigénique.

La partie droite représente une partie de la réponse immunitaire spécifique à médiation cellulaire. Nous y avons fait figurer

- La localisation des cellules immunologiquement compétentes et les altérations de l'épiderme telles que nous les avons observées.

- Divers facteurs d'origine lymphocytaire dont on peut supposer qu'ils soient secrétés par les lymphocytes sensibilisés et soumis à une stimulation antigénique.

- L'existence de cellule mémoire dermique que nous avons évoquée en analysant les résultats fournis par les tests immunologiques.

D'autres discordances se rapportant à l'évolution générale de la réaction concernent, soit l'intensité des réactions engendrées, soit la localisation des cellules immunologiquement compétentes; le mode de stimulation antigénique, intense et continue, explique les premières tandis que le gradient de concentration antigénique qui, par voie de conséquence, s'établit à partir des couches cornées, nous paraît responsable des secondes.

La violence de la réaction se manifeste par les dommages très graves causés aux cellules de l'épiderme, provoquant fréquemment leur lyse complète par la densité très importante de cellules infiltrées et l'état d'activation extrêmement marqué de ces cellules, ainsi que par l'aggrégation de macrophages en cellules géantes. Ces différences avec les conséquences d'une simple injection intradermique de B.C.G. ou un badigeonnage de l'épiderme par du D.N.C.B. ne sont pas étonnantes si on considère que dans notre expérimentation, la libération d'antigènes se prolonge, au moins une quinzaine de jours, période durant laquelle on peut toujours mettre en évidence une végétation parasitaire.

Enfin, nous avons constaté que certaines cellules migrantes parviennent à la surface des téguments, entre les cellules cornées, ce qui, à notre connaissance n'avait jamais été décrit lors des études de réactions d'hypersensibilité retardée. Une confirmation probable de ce fait nous est cependant fournie par l'étude en microscopie à balayage de NURNBERGER (77) effectuée sur une biopsie humaine de trichophytie. Cet auteur a en effet observé, entre les cellules cornées, la présence de "cellules rondes" qu'il a assimilées soit à des lymphocytes, soit à des érythrocytes fixés en milieu hypotonique. Notre travail permet d'affirmer qu'il ne s'agit pas là d'artefacts de fixation; d'autant que toutes les séquences de la migration conduisant les cellules (surtout macrophagiques dans notre cas) depuis le derme jusqu'à la surface de l'épiderme sont observables en microscopie électronique à transmission. En réalité, le phénomène doit concerner un nombre assez important de cellules comme en témoignent les débris cellulaires abondants rencontrés entre les cellules cornées. L'observation de cellules intactes, par contre, est plus rare, ce qui est logique, car elles doivent s'altérer rapidement à ce niveau.

Considérons, à nouveau, la parenté des réactions observées avec les manifestations d'hypersensibilité faisant suite, par exemple, à une injection intradermique éprouvante d'antigène. Dans cette éventualité, le lieu de concentration maximale de l'antigène est situé à l'intérieur des téguments. Par contre, dans la teigne expérimentale, il s'établit un gradient de concentration antigénique prenant son origine au lieu de localisation parasitaire. Dès lors, la présence de cellules immunologiquement compétentes entre les cellules cornées paraît concevable. Bien que nous n'ayons pas pu, jusqu'ici, observer une action directe des cellules immunologiquement compétentes sur les éléments fongiques, cette éventualité ne peut être éliminée; il est en effet possible que nos investigations n'aient pas été encore suffisamment prolongées.

Récemment, TAGAMI (95) a émis l'hypothèse que l'hypersensibilité de contact à la trichophytine intervenait pour une large part dans le déroulement des dermatophyties. La présente étude permet d'en préciser certains caractères au niveau ultrastructural.

**RESUME**



L'étude des réactions d'hypersensibilité a permis de démontrer l'existence d'anticorps anaphylactiques dans le modèle expérimental utilisé. Elle a surtout concerné les réactions de type cellulaire :

- en précisant la cinétique de l'hypersensibilité retardée,
- en mettant en évidence l'action toxique vis-à-vis des spores du champignon de substances élaborées sous l'influence d'une stimulation spécifique par les lymphocytes sensibilisés,
- en apportant des arguments en faveur du caractère localisé de la résistance induite par une primo-infestation dermatophytique.

Ces divers résultats sont discutés en fonction des connaissances actuelles sur l'immunité à médiation cellulaire.

L'étude ultrastructurale des relations hôte-parasite, au niveau des téguments, a montré la présence de cellules immunologiquement compétentes au niveau de l'épiderme et jusque dans les couches les plus superficielles.

La composante immunopathologique des lésions cutanées a été discutée en particulier en fonction de cette présence et des informations obtenues par la pratique des tests immunologiques.

Grâce à l'étude cytochimique de l'ultrastructure pariétale du dermatophyte, des précisions ont été apportées à la connaissance de cette dernière et des relations suggérées entre les modifications ultrastructurales observées au cours du vieillissement du champignon et certaines réactions immunologiques des organismes parasités.

## CONCLUSION



Ce travail s'insère dans le cadre beaucoup plus vaste des recherches sur les relations hôte-parasite poursuivies depuis de nombreuses années dans notre laboratoire. Il montre, une fois de plus, que l'application des techniques et des concepts les plus récents d'immunologie aux modèles expérimentaux fongiques et parasitaires peut apporter des informations intéressantes. Son originalité réside en l'utilisation assez importante du microscope électronique pour analyser *in vivo* et simultanément des phénomènes cellulaires étudiés *in vitro* et de façon cinématique par une autre méthodologie.

Dans le cadre de notre modèle, cette approche expérimentale semble démontrer, eu égard aux notions antérieurement connues, les avantages de l'analyse des divers paramètres recueillis en un même moment par divers moyens.

Schématiquement, il nous est apparu préférable de rechercher à plusieurs moments de la maladie expérimentale un ensemble ordonné de résultats plutôt que de concentrer tous nos efforts et notre temps, à l'aide d'une seule technique, sur la mise en évidence aléatoire d'un fait précis, mais incapable à lui seul de rendre compte de phénomènes essentiellement dynamiques.

Au terme de cette étude, nous envisageons de poursuivre notre travail dans deux voies différentes :

a) préciser de façon ponctuelle dans le même modèle, certains aspects qui restent difficilement interprétables dans le cadre de nos résultats actuels. A notre avis l'observation de faits très précis, pouvant être plus valablement interprétée dans le cadre défini par l'étude présente. Dans cette optique, nous comptons explorer le caractère local de la résistance; l'influence d'une variation de réceptivité de l'hôte après administration d'immunodépresseurs ainsi que les rapports membranaires entre les cellules infiltrées et les cellules épidermiques par des études de microscopie électronique à plus haute résolution.

b) application à d'autres modèles parasitaires et fongiques de la méthodologie présentement utilisée en fonction des modalités connues des relations hôte-parasite de ces modèles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

\*

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) ANDRIEU (S.), BIGUET (J.) & LALOIX (B.).- Analyse immunoélectrophorétique comparée des structures antigéniques de 17 espèces de dermatophytes.  
Mycopath. Mycol. appl., 1968, 34, 161-185.
- (2) BAART DE LA FAILLE-KUYPER (E.H.), VAN DER MEER (J.B.) & BAART DE LA FAILLE (H.).- An immunohistochemical study of the skin of healthy individuals.  
Acta Dermato. Venereol., 1974, 54, 271-274.
- (3) BARKER (S.A.), CRUICKSHANK (C.N.D.), MORRIS (J.A.) & WOOD (S.R.).- The isolation of trichophytin glycopeptide and its structure in relation to immediate and delayed reactions.  
Immunology, 1962, 5, 627-632.
- (4) BASARAB (O.), HOW (M.J.) & CRUICKSHANK (C.N.D.).- Immunological relationships between glycopeptides of *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* and other fungi.  
Sabouraudia, 1968, 6, 119-126.
- (5) BASSET (F.) & NEZELOF (C.).- L'Histiocytose X. Microscopie électronique. Culture *in vitro* et histo-enzymologique. Discussion à propos de 21 cas.  
Rev. Franç. Etudes Clin. & Biol., 1969, 14, 31-45.
- (6) BASSET (M.), GROSSHANS (E.) & BASSET (A.).- Teignes inflammatoires et granulomateuses.  
Journées nationales de la Soc. Franç. de Mycol. Med.,  
Grenoble, 1975.
- (7) BESSIS (M.).- Cellules du sang normal et pathologique.  
Masson & Cie Edit., Paris, 1972.
- (8) BIRT (A.R.) & WILT (J.C.).- Mycology, bacteriology and histopathology of suppurative ringworm.  
Arch. Derm. Syph., 1954, 69, 441-448.

- (9) BISHOP (C.T.), BLANK (F.) & HARNISAVLJEVIC-JAKOLJEVIC (M.).- The water soluble polysaccharides of dermatophytes. I.-A galactomannan from *Trichophyton granulosum*.  
Can. J. Chem., 1962, 40, 1816-1825.
- (10) BISHOP (C.T.), PERRY (M.B.), HULIALKAR (R.K.) & BLANK (F.).- The water soluble polysaccharides of dermatophytes. VI.- Glucans from *Trichophyton granulosum*, *Trichophyton interdigitale*, *Microsporum quinckaneum*, *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton schoenleinii*.  
Can. J. Chem., 1966, 44, 2299-2303.
- (11) BLANK (F.).- The chemical composition of the cell wall of dermatophytes.  
Biochem. Biophys. Acta, 1953, 10, 110-113.
- (12) BLANK (F.) & PERRY (M.B.).- The water soluble polysaccharides of dermatophytes. A galactomannan from *Trichophyton interdigitale*.  
Can. J. Chem., 1964, 42, 2862-2871.
- (13) BLANK (H.), SAGAMI (S.), BOYD (C.) & ROTH (J.).- The pathogenesis of superficial fungous infections in cultured human skin.  
Arch. Derm., 1959, 79, 524-535.
- (14) BLANK (H.), TAPLIN (D.) & ROTH (F.J.).- Electron microscopic observations of the effect of griseofulvin on dermatophytes.  
Arch. Derm. Syph., 1960, 81, 667-680.
- (15) BLOCH (B.) & MASSINI (R.).- Studien über Immunität und über Empfänglichkeit bei Hyphomyzetenkrankungen.  
Z. Hyg. Infektkrankh., 1909, 36, 68-69.
- (16) BLOCH (B.), LABOUCHERE (A.) & SHAAF (F.).- Versuch einer chemischen Charakterisierung und Reindarstellung des Trichophytins.  
Arch. Derm. Syph., 1925, 148, 413-424.
- (17) BLOCH (B.).- Allgemeine und experimentelle Biologie der durch Hyphomyzeten erzeugten Dermatomykosen.  
Handbuch der Haut und Geschlechtskrankheiten.  
Ed. JODASSOHN.

- (18) BREATHNACH (A.S.).- The cell of Langerhans.  
Int. Rev. Cytol., 1965, 18, 1-28.
- (19) BRODY (I.).- An ultrastructural study of the guinea-pig epidermis.  
J. Ultrastruct. Res., 1959, 2, 482-493.
- (20) CARPENTER (R.R.).- *In vitro* study of cell hypersensitivity. I.- Specific inhibition of migration of cells from adjuvant immunized animal with P.P.D. and other protein antigens.  
J. Immunol., 91, 803-845.
- (21) CASSONE (A.), SIMONETTI (N.) & STRIPPOLI (V.).- Ultrastructural changes in the wall during germ tube formation from blastospores of *Candida albicans*.  
J. Gen. Microbiol., 1973, 77, 417-426.
- (22) CEROTTINI (J.C.) & BRUNER (K.T.).- Cell mediated cytotoxicity, allograft rejection and tumor immunity.  
Adv. Immunol., 1974, 18, 67-132.
- (23) CHANG (P.L.Y.) & TREVITHIK (J.R.).- How important is secretion of exoenzymes through apical cell walls of fungi.  
Arch. Microbiol., 1974, 101, 281-293.
- (24) COLLINS (J.P.), GRAPPEL (S.) & BLANK (F.).- Role of keratinases in dermatophytosis.  
Dermatologica, 1973, 146, 95-100.
- (25) COX (W.A.) & MOORE (J.A.).- Experimental *Trichophyton verrucosum* infections in laboratory animals.  
J. Comp. Path., 1968, 78, 35-41.
- (26) CRUICKSHANK (C.N.D.), TROTTER (M.D.) & WOOD (S.R.).- Studies on trichophytin sensitivity.  
J. Invest. Derm., 1960, 35, 219-223.
- (27) CUNNINGHAM (A.J.).- Studies on the cellular basis of IgM immunological memory by small amount of antibody formation in bone marrow cells primed spleen cells.  
Immunol. , 1969, 17, 333-342.

- (28) DAVID (J.), ALASKARI (S.), LAWRENCE (H.S.) & THOMAS (L.).- Delayed hypersensitivity *in vitro*. I.- The specificity of cell migration by antigens.  
J. Immunol., 1964, 93, 264-273.
- (29) DE LAMATER (E.D.) & BENHAM (R.W.).- Experimental studies with the dermatophytes. Immunity and hypersensitivity produced in laboratory animals.  
J. Invest. Derm., 1938, I, 469-488.
- (30) DE LAMATER (E.D.).- Experimental studies with the dermatophytes. Development and duration of immunity and hypersensitivity in guinea-pigs.  
J. Invest. Derm., 1941, 4, 143-158.
- (31) DE LAMATER (E.D.).- Experimental studies with the dermatophytes. The influence of age upon the allergic response in experimental ringworm in the guinea-pig.  
J. Invest. Derm., 1942, 5, 423-429.
- (32) FISHER (M.).- The effects of corticosteroids on serum fungistatic activity.  
Mycopath. Mycol. Appl., 1971, 44, 241-246.
- (33) FISHER (M.) & SHER (A.M.).- Virulence of *Trichophyton mentagrophytes* infecting steroid treated guinea-pig.  
Mycopath. Mycol. Appl., 1972, 47, 121-127.
- (34) FORTEZA-VILA (J.), FLAD (H.D.) & HOCHAPFEL (G.).- Ultrastructure of lymphocytes and macrophages in the migration inhibition test (M.I.T.).  
J. Reticuloendothel. Soc., 1972, II, 539-554.
- (35) GOGUEL (A.F.) & NAUCIEL (C.).- Lymphotoxine de cobaye. Mise en évidence et étude de certaines propriétés physico-chimiques.  
Ann. Immunol. Inst. Pasteur, 1974, I25 C, 569-579.
- (36) GEORGE (M.) & WAUGHAN (J.H.).- *In vitro* cell migration as a model for delayed sensitivity.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1962, 3, 514-532.

- (37) GIP (L.) & HAGERMARK (O.).- Studies on the possible role of histamine in the pathogenesis of ringworm infections.  
Acta Dermatovener., 1972, 52, 225-228.
- (38) GOSS (W.A.), ACTOR (P.), JAMBOR (W.P.) & PAGANO (J.F.).- The *Trichophyton mentagrophytes* and *Microsporium canis* infection of the guinea-pig. I.- The development of a chronic infection.  
J. Invest. Derm., 1962, 38, 299-304.
- (39) GRAHAM (J.H.), BLANK (F.), JOHNSON (W.C.) & GRAY (H.R.).- *Trichophyton rubrum* infections. A histopathological histochemical and chemical study.  
Amer. J. Path., 1965, 46, 34.
- (40) GRANGER (G.A.).- Mechanisms of lymphocyte induced cell and tissue destruction *in vitro*.  
Am. J. Path., 1970, 60, 469-480.
- (41) GRAPPEL (S.F.), BLANK (F.) & BISHOP (C.T.).- Immunological studies on dermatophytes. I.- Serological reactivities of neutral polysaccharides with rabbit antiserum to *Microsporium quinckaneum*.  
J. Bact., 1967, 93, 1001-1008.
- (42) GRAPPEL (S.F.), BLANK (F.) & BISHOP (C.T.).- Immunological studies on dermatophytes. IV.- Serological reactivities of polysaccharides from *Microsporium praecox*, *Trichophyton ferrugineum*, *Trichophyton sabouraudii* and *Trichophyton tonsurans*.  
J. Bact., 1969, 97, 23-26.
- (43) GRAPPEL (S.F.).- Immunological reactivity of a synthetic polymannan.  
Experientia, 1971, 27, 329-330.
- (44) GRAPPEL (S.F.), BLANK (F.) & BISHOP (C.T.).- Circulating antibodies in human favus.  
Dermatologica, 1971, 143, 271-273.
- (45) GRAPPEL (S.F.), BLANK (F.) & BISHOP (C.).- Circulating antibodies in dermatophytosis.  
Dermatologica, 1972, 144, I-II.

- 10
- (46) GRAPPEL (S.F.) & BLANK (F.).- The role of keratinases in dermatophytosis. Immune responses of guinea-pigs infected with *Trichophyton mentagrophytes* and guinea-pigs immunised with keratinases.  
Dermatologica, 1972, 145, 245-255.
- (47) Groupe scientifique de l'O.M.S.- Immunité cellulaire et résistance à la réinfection.  
W.H.O. Tech. Rep., Ser. 519, 1973, 5-63.
- (48) HELLGREN (L.) & VINCENT (J.).- Increased fungistatic activity of skin surface lipids in the presence of anti-oxidants.  
Mycopath. Mycol. Appl., 1972, 48, 335-337.
- (49) HETERINGTON (G.), FREEMAN (R.G.) & HALLORAN (I.).- Intercellular location of hyphae in experimental dermatomycoses.  
Experientia, 1969, 25, 889-890.
- (50) HOW (M.J.), WITHNALL (M.T.) & CRUICKSHANK (C.N.D.).- Allergenic glucans from dermatophytes.  
Carbohyd. Res., 1972, 25, 341-353.
- (51) ITO (K.).- Immunologic aspects of superficial fungous diseases. Trichophytin : skin and serologic reactions.  
Proc. II Ind Internat. Congr. Dermatol., 1968, I, 563-567.
- (52) ITO (K.), SETOGUTI (Y.), NOZAWA (S.), SAKURAI (T.) & KONEYA (T.).- Further observations on *Trichophyton violaceum*. Non pigmented mutant mycelia.  
Sabouraudia, 1969, 7, 138-141.
- (53) JONES (H.E.) & INOUE (J.).- Inter-relationships : immediate and delayed sensitivity.  
Clin. Res., 1973, 21, 246.
- (54) KEENEY (E.L.) & HUPPERT (M.).- Immunization against superficial fungous infection.  
J. Invest. Derm., 1959, 32, 7-13.

- (55) KITAZIMA (Y.), BANNO (Y.), NOGUCHI (T.), NOZAWA (Y.) & ITO (Y.).- Effects of chemical modification of structural Blymer upon the cell wall integrity of *Trichophyton*.  
Arch. Biochem. Biophys., 1972, 152, 811-820.
- (56) KLIGMAN (A.M.).- Tinea capitis due to *Microsporum canis* and *Microsporum audouini* dynamics of the hote-parasite relationship.  
Arch. Derm., 1955, 71, 313-324.
- (57) KLIGMAN (A.M.).- Pathophysiology of ringworm infections in animals with skin cycles.  
J. Invest. Derm., 1956, 27, 171-184.
- (58) LADEN (E.L.) & ERICKSON (J.O.).- Electron microscope study of *Epidermophyton floccosum*.  
J. Invest. Derm., 1958, 31, 55-58.
- (59) LAI A FAT (R.F.M.) & VAN FURTH (R.).- The role of skin and adjacent mucous membranes in host defense.  
J. Cutan. Pathol., 1974, 1, 61-70.
- (60) LA-VIA (M.F.), VATTER (A.E.), CLAMAN (H.N.) & BRUNSETTER (F.H.).- Effects of anti-lymphocyte serum and phytohemagglutinin upon cultures of human thymus and peripheral blood lymphoid cells. II.- Electron microscopic studies of thymus cells.  
Lab. Invest., 1968, 18, 763-782.
- (61) LE BOUTEILLER (P.) & VUJANOVIC (N.).- Ultrastructure des lymphocytes d'aspect thymique et d'aspect médullaire chez la souris. Critères morphologiques et morphométriques.  
C.R. Acad. Sci. Paris, Sér. D, 1974, 278, 341-344.
- (62) LE BOUTEILLER (P.), VUJANOVIC (N.), DUC (H.T.), KINSKY (R.) & VOISIN (G.A.).- Ultrastructure des lymphocytes d'aspect thymique et d'aspect médullaire chez la souris : identification par marquage immuno-enzymatique.  
Ann. Immunol. Inst. Pasteur, 1974, 125 C, 445-450.
- (63) LEPPER (A.W.D.).- Immunological aspects of dermatomycoses in animals and man.  
Rev. Med. Vet. Mycol., 1969, 6, 435-446.
- (64) LIKHTE (V.) & SEHON (A.).- Migration inhibition and cell mediated immunity a review.  
Rev. Can. Biol., 1971, 30, 135-151.

- (65) LONGBOTTOM (J.L.) & PEPYS (J.).- Pulmonary aspergillosis : diagnostic and immunological significance of antigens and O-substance in *Aspergillus fumigatus*.  
J. Path. Bact., 1964, 88, 141-151.
- (66) LORINCZ (A.L.), PRESTLEY (J.O.) & JACOBS (P.H.).- Evidence for a humoral mechanism which prevents growth of dermatophytes.  
J. Invest. Derm., 1958, 31, 15-17.
- (67) MACKANESS (C.B.).- Cellular immunity.  
Ann. Immunol. Inst. Pasteur, 1970, 120 C, 428-437.
- (68) MAESTRONE (G.), SADEK (S.) & MITROVIC (M.).- Lesions of dermatophytosis in guinea-pigs treated with triacynolone acetone : an animal model.  
Am. J. Vet. Res., 1973, 34, 833-836.
- (69) MARCUSSEN (P.V.).- Relationship of urticarial to inflammatory reaction to trichophytin.  
Arch. Derm. Syph., 1937, 36, 494-514.
- (70) MATOLTSY (A.G.) & PARAKKAL (P.).- Membrane coating granules of keratinized epithelia.  
Biol. Rev., 1966, 24, 297-307.
- (71) MATOLTSY (A.G.).- The chemical nature of keratohyalin granules of the epidermis.  
J. Cell. Biol., 1971, 47, 593-603.
- (72) MAZZUCA (M.) & AGACHE (P.).- Structure fine de l'épiderme plantaire humain.  
J. microscopie, 1970, 9, 75-88.
- (73) MENGES (R.W.) & GEOGE (L.K.).- An epizootic of ringworm among guinea-pig caused by *Trichophyton mentagrophytes*.  
J. Amer. Med. Ass., 1956, 128, 395-398.
- (74) MOLIN (L.).- On the immunosuppressive effect of Griseofulvin.  
Mykosen, 1971, 14, 433-436.
- (75) NELSON (D.S.).- Macrophages and immunity.  
North Holland Press, Ed. Amsterdam, 1969.

- (76) NOGUCHI (T.), KITAZIMA (Y.), NOZAWA (Y.) & ITO (Y.).- Isolation, composition and structure of cell-walls of *Trichophyton mentagrophytes*.  
Arch. Biochem. Biophys., 1971, 146, 506-612.
- (77) NURNBERGER (F.).- Rasterelektronenmikroskopische Befunde bei *Trichophytia superficialis* verursacht durch *Trichophyton mentagrophytes*. Teil II : Sekundärbefall der Epidermis mit Hefen und Bakterien sowie Beobachtungen im Corium.  
Castellania, 1974, 2, 187-190.
- (78) OVARY (Z.).- Immediate reaction in the skin of experimental animals provoked by antibody-antigen interactions.  
Prog. Allergy, 1958, 5, 459-508.
- (79) PEARSALL (N.N.), SUNDSMO (J.S.) & WEISER (R.S.).- Lymphokine toxicity for yeast cells.  
J. Immunol., 1973, 110, 1444-1446.
- (80) PECK (S.M.), OSSERMAN (K.E.) & RULE (A.H.).- Intercellular antibodies: presence in a *Trichophyton rubrum* infection.  
J. Invest. Derm., 1972, 58, 133-138.
- (81) PEPYS (J.), RIDDE (R.W.) & CLAYTON (Y.M.).- Human precipitins against common pathogenic fungi and non-pathogenic fungi.  
Nature, 1959, 184, 1328-1329.
- (82) POCK-STEEN (B.) & KOBAYASHI (T.).- Ultrastructure of the hyphal wall and septum of *Trichophyton mentagrophytes*.  
J. Invest. Derm., 1970, 55, 404-409.
- (83) POULAIN (D.).- Contribution à l'étude ultrastructurale de l'invasion des téguments par les dermatophytes.  
D.E.A. Université des Sciences et Techniques Lille, 1972.
- (84) POULAIN (D.) & BIGUET (J.).- Etude en microscopie électronique de l'action kératinolytique de *Trichophyton mentagrophytes* dans le poil de cobaye infecté expérimentalement.  
Sabouraudia, 1974, 12, 1-6.
- (85) RAYNAUD (M.) & STAUB (A.M.).- Cours d'immunologie de l'Institut Pasteur de Paris, 1974.

- (86) REISS (A.) & LEONARD .- Electron microscopic studies of ultrasonic irradiated *Trichophyton mentagrophytes*.  
Dermatologica, 1958, 117, 401-406.
- (87) REISS (F.) & CAROLINE (L.).- The influence of A.C.T.H. and cortisone upon experimental *Achorion quinckaneum* infection upon anaphylaxis in guinea(pig).  
J. Invest. Derm., 1962, 19, 365-370.
- (88) RICH (A.R.) & LEWIS (M.R.).- The nature of allergy in tuberculosis as revealed by tissue culture studies.  
Bull. Johns Hopkins Hosp., 1932, 50, 115-125.
- (89) RIPPON (J.W.) & BARKER (E.D.).- Dermatophyte pathogenicity as a function of mating type and associated enzymes.  
J. Invest. Derm., 1969, 53, 445-448.
- (90) ROTHMAN (S.), SMILJANIC (A.), SHAPIRO (A.L.) & WEITKAMP (A.W.).- The spontaneous cure of *Tinea capitis* in puberty.  
J. Invest. Derm., 1947, 8, 81-98.
- (91) RZUCIDLO (L.), STACHOW (A.), NOWAKOWSKA (A.) & KUBICA (J.).- Chemical and biological properties of cell walls of *Candida krusei*, *Trichophyton gypseum* and *Penicillium notatum*.  
Bull. Acad. Pol. Sci. II, Sci. Biol., 1958, 6, 15-20.
- (92) SAFERSTEIN (H.I.), STRACHAN (A.A.), BLANK (F.) & BISHOP (C.T.).- *Trichophyton* activity and polysaccharides.  
Dermatologica, 1968, 136, 151-154.
- (93) SMYTH (A.C.) & WEISS (L.).- Electron microscopic study of inhibition of macrophage migration in delayed hypersensitivity.  
J. Immunol., 1970, 105, 1360-1375.
- (94) STOIAN (M.).- Aspects ultrastructuraux des dermatophytes.  
Dermatologica, 1970, 141, 95-101.
- (95) TAGAMI (H.), WATANABE (S.) & OFUJI (S.).- Trichophytin contact sensitivity in guinea-pigs with experimental dermatophytosis induced by a new inoculation method.  
J. Invest. Derm., 1973, 61, 237-241.

- (96) TAPLIN (D.) & BLANK (H.).- Microscopic morphology of *Trichophyton rubrum*.  
J. Invest. Derm., 1961, 37, 523-528.
- (97) THIERY (J.P.).- Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique.  
J. Microscopie, 1967, 6, 987-1018.
- (98) THOR (D.E.) & DRAY (S.).- The cell migration inhibition correlate of delayed hypersensitivity.  
J. Immunol., 1968, 101, 469-484.
- (99) URABE (H.) & IZU (T.).- The ultrastructure of *Trichophyton* and a double cell wall in the hypha.  
J. Invest. Derm., 1969, 52, 508-513.
- (100) VANBREUSEGHEM (R.).- Critique de quelques notions classiques en matière de teignes.  
Bull. Acad. Med. Belg., 1973, 128, 309-328.
- (101) VAN FURTH (R.).- Factors in host resistance to bacterial infections. In Host Resistance to commensal bacteria, 1973, 47-63.  
Mc PHEE Ed., Edinburgh and London, Churchill Livingstone.
- (102) VERNES (A.), BIGUET (J.), FLOCH (F.) & POULAIN (D.).- Relations of delayed hypersensitivity, cell mediated immunity and parasitic adaptation in human or experimental parasitic and fungal diseases.  
Joint Meeting of Europ. Soc. for Immun., Strasbourg, 1973.
- (103) VERNES (A.), POULAIN (D.), PRENSIER (G.), DEBLOCK (S.) & BIGUET (J.). Trichinose expérimentale. III.- Action *in vitro* des cellules péritonéales sensibilisées sur les larves musculaires de premier stade. Etude préliminaire comparative en microscopie optique et électronique à transmission et à balayage.  
Biomed., 1974, 21, 140-145.
- (104) VERNES (A.), FLOCH (F.), BIGUET (J.) & TAILLIEZ (R.).- Trichinose expérimentale. I.- Cinétique des phénomènes d'hypersensibilité retardée chez la souris CBA et le rat Wistar.  
Int. J. Parasit., 1975, 5, 63-70.

- (IO5) VOISIN (G.A.) & TOULET (F.).- Etudes sur l'hypersensibilité. V.- Analyse des divers types d'hypersensibilité induits par l'injection d'un complexe immun en adjuvants complets.  
Ann. Inst. Pasteur, 1966, III, 377-412.
- (IO6) WEINSTOCK (M.) & WILGRAM (G.F.).- Fine structural observations on the formation and enzymatic activity of keratinosomes in mouse tongue filiform papillae.  
J. Ultrastruct. Res., 1970, 30, 262-274.
- (IO7) WEISS (L.).- The cells and tissues of the immune system.  
L. WEISS Ed. (Prentice Hall, inc.). Englewood Cliffs, New Jersey, 1972.
- (IO8) WERNER (H.J.), JOLLY (H.W.) & HUNTER LEE (J.).- Electron microscopic observations of *Epidermophyton floccosum*.  
J. Invest. Derm., 1964, 43, 139-143.
- (IO9) WERNER (H.J.), JOLLY (H.W.) & SPURLOCK (B.O.).- Electron microscope observations of the fine structure of *Microsporium canis*.  
J. Invest. Derm., 1966, 46, 130-134.
- (IIO) WHARTON (M.L.), REISS (F.) & WHARTON (D.R.A.).- Active immunization against *Trichophyton purpureum* in rabbits.  
J. Invest. Derm., 1950, 14, 291-303.
- (III) WIENER (J.), SPIRO (D.) & RUSSEL (P.S.).- An electron microscopic study of the homograft rejection.  
Am. J. Pathol., 1964, 44, 319-347.
- (II2) WIENER (J.), SPIRO (D.) & ZUNKER (H.O.).- A cellular study of tuberculin sensitivity.  
Am. J. Pathol., 1965, 47, 723-763.
- (II3) WOOD (S.R.) & CRUICKSHANK (C.N.D.).- The relation between trichophytin sensitivity and fungal infection.  
Br. J. Derm., 1962, 74, 329-336.
- (II4) WYLLIE (J.C.), MORE (R.H.) & HAUST (D.).- Electron microscopy of epidermal lesions elicited during delayed hypersensitivity.  
Lab. Invest., 1964, 13, 137-151.

- (II5) YU (R.J.), HARMON (S.R.) & BLANK (F.).- Hair digestion by a keratinase of *Trichophyton mentagrophytes*.  
J. Invest. Derm., 1969, 53, 116-171.
  
- (II6) YU (R.J.), GRAPPEL (S.) & BLANK (F.).- Inhibition of keratinases by alpha<sub>2</sub> macroglobulin.  
Experientia, 1972, 28, 886.
  
- (II7) ZELICKSON (A.S.).- Ultrastructure of normal and abnormal skin.  
Lea & Febiger Ed. Philadelphia, 1967.

TABLE DES MATIERES

\*

INTRODUCTION .....	1
PLAN GENERAL .....	3

PREMIER CHAPITRE : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I.- CARACTERES BIOLOGIQUES DES DERMATOPHYTES ET DE <i>Trichophyton mentagrophytes</i> EN PARTICULIER .....	8
II.- FACTEURS DE L'IMMUNITE, ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE. ....	10
A.- FACTEURS DE L'IMMUNITE .....	10
B.- ULTRASTRUCTURES ET FONCTIONS DES CELLULES DU SYSTEME IMMUNITAIRE .....	12
III.- IMMUNOLOGIE DES DERMATOPHYTES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX ..	20
A.- DEROULEMENT DE L'INFECTION, ELEMENTS D'HISTO-PATHOLOGIE	20
B.- IMMUNITE NATURELLE .....	23
C.- IMMUNITE ACQUISE .....	27
D.- LES FACTEURS DE L'IMMUNITE .....	29
E.- STRUCTURE ANTIGENIQUE .....	33
PRESENTATION DU TRAVAIL EFFECTUE .....	39

DEUXIEME CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES.

I.- MATERIEL .....	42
II.- METHODES .....	43

### TROISIEME CHAPITRE : RESULTATS

I.- DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE .....	49
II.- TESTS IMMUNOLOGIQUES .....	50
A.- TESTS <i>in vivo</i> .....	50
B.- TESTS <i>in vitro</i> .....	55
III.- MICROSCOPIE ELECTRONIQUE .....	60
A.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS .....	60
B.- LA PAROI MYCELIENNE DE LA FORME SAPROPHYTE DE <i>Tricho-</i> <i>phyton mentagrophytes</i> . .....	67

### QUATRIEME CHAPITRE : DISCUSSION

I.- DEROULEMENT DE L'INFECTION EXPERIMENTALE .....	72
II.- TESTS IMMUNOLOGIQUES, ETUDE CINETIQUE DES REACTIONS D'HY- PERSENSIBILITE .....	73
A.- ANALYSE DES RESULTATS DE CHACUN DES TESTS PRATIQUES ..	73
B.- CONCLUSIONS RELATIVES A L'ENSEMBLE DES TESTS EXPLORANT L'IMMUNITE CELLULAIRE, RAPPORTS AVEC LA RESISTANCE ...	80
III.- ETUDE CYTOCHIMIQUE DE LA PAROI MYCELIENNE DE LA FORME SA- PROPHYTE DE <i>Trichophyton mentagrophytes</i> .....	83
A.- ANALYSE DES RESULTATS, SCHEMA SYNTHETIQUE .....	83
B.- MECANISMES POSSIBLES CONCERNANT L'INFORMATION ET LA STIMULATION ANTIGENIQUE AU COURS DES DERMATOPHYTES ...	86
IV.- ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX DES RELATIONS HOTE-PARASITE AU NIVEAU DES TEGUMENTS .....	89
A.- ANALYSE SEQUENTIELLE DES RESULTATS .....	89

B.- MODIFICATIONS DE L'EPIDERME ET INFILTRATION CELLULAIRE, CARACTERE IMMUNOPATHOLOGIQUE DE LA REACTION EN RELATION AVEC L'HYPERSENSIBILITE RETARDEE; SCHEMA SYNTHETIQUE ..... 93

RESUME ..... 99

CONCLUSION ..... 101

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES ..... 103-116

ANNEXE : PLANCHES .....in fine

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE I.

U.E.R. DE BIOLOGIE

\* \* \*

THESE DE TROISIEME CYCLE

(Biologie Cellulaire)

-----  
**Daniel POULAIN**  
-----

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES RELATIONS HOTE-PARASITE  
AU COURS DE LA DERMATOPHYTIE EXPERIMENTALE DU  
COBAYE PAR TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES.

. Etude de l'immunité à médiation cellulaire in-vitro par tests  
immunologiques et in-vivo en microscopie électronique.

. Etude cytochimique ultrastructurale de la paroi du dermatophyte

**ANNEXE :**

**PLANCHES**

\*  
-----

## LEGENDE DES FIGURES

- C. : capillaire. Endothélium de capillaire  
C.E. : Cellule épidermique  
C.W. : Corps de Woronin  
D : derme  
D.E. : débris cellulaires  
De : desmosome  
E. : épiderme  
Ec. : enveloppes de cellules cornées  
f : filaments cytoplasmiques  
G. : glycogène  
Go. : Golgi  
g. : granules de Langerhans  
HDe : hēmi-desmosome  
K. : kératohyaline  
k. : kératinosome  
L. : lipides  
LP. : vaisseau lymphatique  
Ly. : lysosome  
Lc. : cellule de type lymphocytaire  
Lo. : lomasome  
M. : mycélium  
m. : mitochondrie  
Ma. : cellule de type macrophagique  
Mo. : cellule de type monocytaire  
Mb. : membrane basale épidermique  
N. : noyau  
OE. : réaction oedémateuse  
P. : paroi fongique  
Pl. : cellule de type plasmocytaire  
Ps. : pseudopode  
p. : plasmalème  
PI : couche externe de la paroi  
P2 : couche interne de la paroi, parfois dissociable en  
P2a : couche moyenne et  
P2b : couche juxtacytoplasmique  
r. : ribosomes  
RE : réticulum endoplasmique  
SC : *stratum corneum*  
SD : *stratum disjunctum*  
SG : *stratum granulosum*  
SGe : *stratum germinativum*  
SS : *stratum spinosum*

tf. : tonofilaments

V. : vacuoles

v. : vésicules de pinocytose

Le double trait porté sur les micrographies figure 1 micron, sauf indication contraire.

## PLANCHE I

Figures I, 2, 3 : déroulement de l'infection primaire expérimentale (l'infection est bilatérale, les manifestations sont identiques sur chaque flanc).

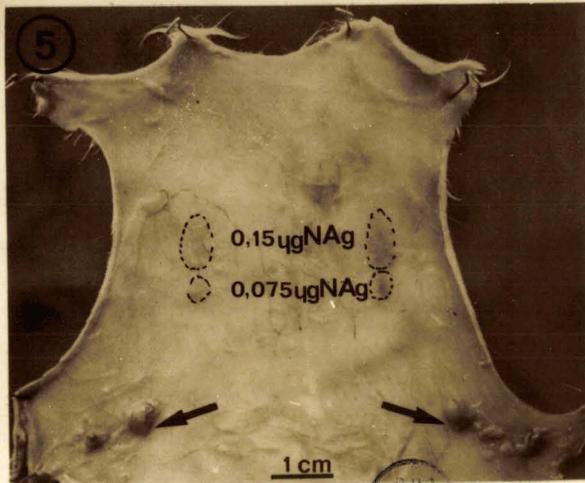
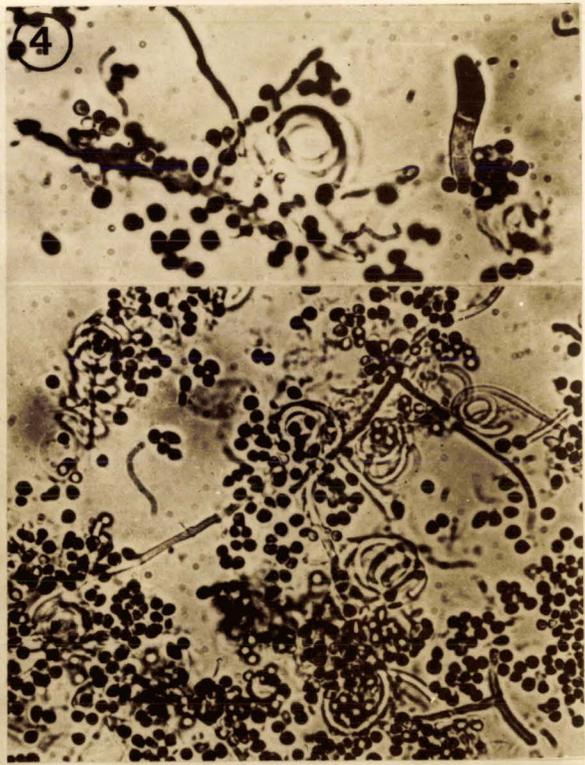
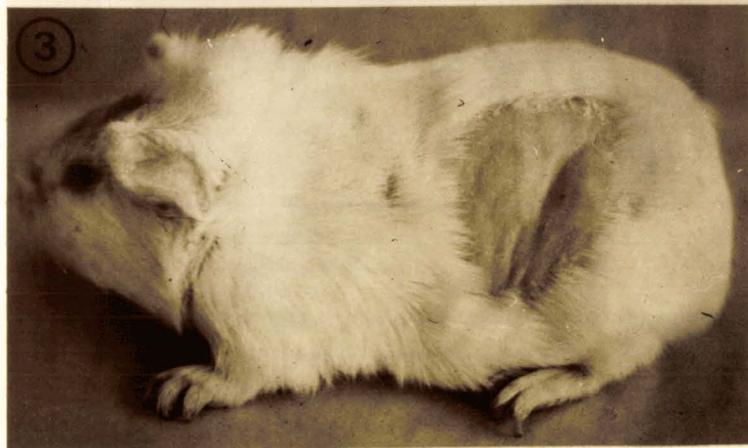
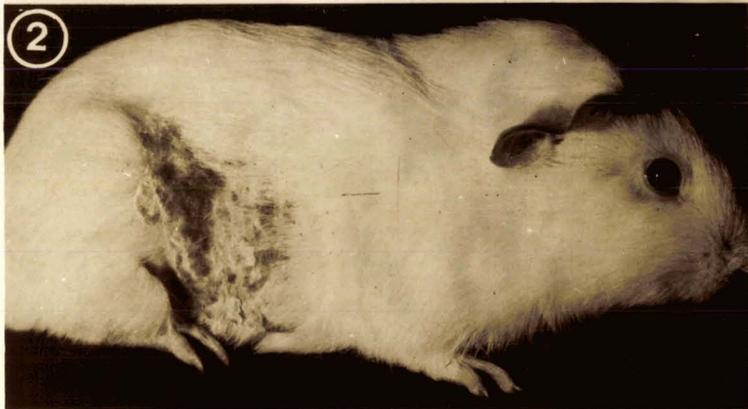
Figure 1.— Début de l'infection (3ème jour). Remarquer la réaction érythémateuse localisée à la zone d'infestation; elle est limitée au rectangle dessiné sur les flancs des animaux, nous ayant servi à standardiser la surface épidermique inoculée.

Figure 2.— Début de la période d'état (7ème jour). La réaction érythémateuse est intense et la surface épidermique légèrement suintante. Le décollement d'écailles épidermiques traduit une hyperkératose; de fines croûtes se forment, elles seront beaucoup plus épaisses ultérieurement. De nombreux poils ont déjà disparu.

Figure 3.— Période de guérison (du 24ème jour au 28ème jour). Le décollement des croûtes laisse apparaître une zone épidermique dépourvue de lésions, lisse et glabre. La repousse des poils se manifestera environ une semaine plus tard.

Figure 4.— Morphologie microscopique de l'agent infectieux : *Trichophyton mentagrophytes*. Le mycélium présente des images de branchement à 90° (flèches courbes) ainsi que de nombreux organes spiralés. Les microconidies (astérisque), ou aleuries, sont très nombreuses et disposées en grappes. Les macroconidies (flèche droite) à paroi peu épaisse et dépourvues d'échinulations ont une forme irrégulière.  
Bleu de toluidine X 600.

Figure 5.— Réaction d'anaphylaxie cutanée directe. Face dermique du tégument d'un animal infecté sacrifié 3/4 d'heure après injection intradermique de bleu d'Evans, 1/4 d'heure après injection d'antigène. Dans ce cas la réaction témoin fut négative. La surface colorée à la suite de l'extravasation plasmatique est délimitée par un trait pointillé. Remarquer les ganglions tributaire du territoire infecté, hypertrophiés (flèches).



808  
LIFE

## PLANCHE II

### Epiderme de cobaye sain.

Figure 1. - Vue d'ensemble à faible grandissement. L'épiderme est séparé du derme par une membrane basale, à sa partie superficielle les écailles cornées du *stratum corneum* sont facilement identifiables. Les kératinocytes, reliés par des desmosomes, sont étroitement accolés les uns aux autres. A l'intérieur des cellules en activité métabolique sont observables tous les organites intervenant dans le processus de kératinisation. Les tonofilaments, visibles dans toutes les couches épidermiques; les kératinosomes, apparaissant à la partie supérieure du *stratum spinosum*, la kératohyaline, localisée exclusivement au *stratum granulosum*.  
X 8.000

Figure 2. - Jonction dermo-épidermique. Cellule de la couche germinative insérée sur la membrane basale par l'intermédiaire d'hémi-desmosomes et émettant une évagination intra-dermique. Remarquer la présence d'une grande quantité de tonofilaments conférant au cytoplasme une densité importante aux électrons.  
X 13.000

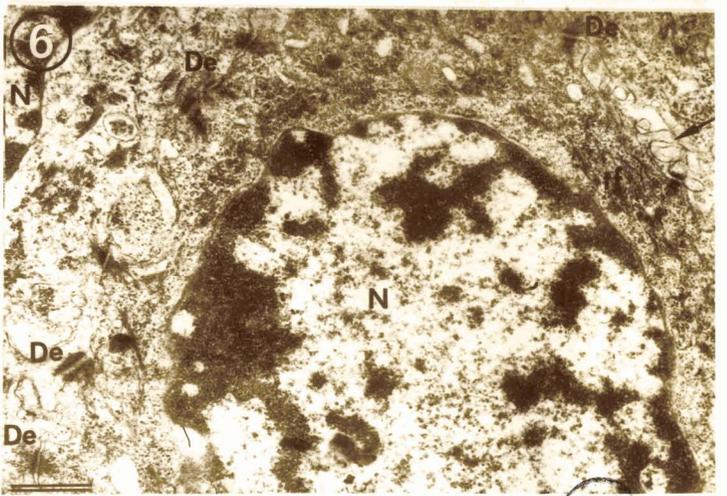
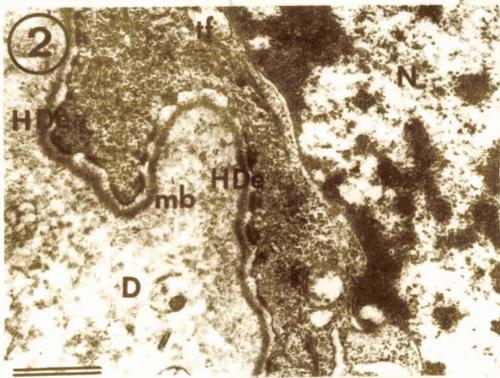
Figure 6. - Partie supérieure de la couche germinative. Cellule analogue à celle de la figure précédente mais on peut ici observer les liaisons entre cellules épidermiques qui s'opèrent par desmosomes ou dispositifs du type tenon-mortaise (flèche).  
X 13.000

Figure 3. - Jonction *stratum granulosum*-*stratum corneum*. Partie du cytoplasme d'une cellule du *stratum granulosum* montrant des faisceaux épais de tonofilaments, l'existence d'une grande flaque de kératohyaline ainsi qu'un kératinosome à proximité de la membrane plasmique.  
X 22.000

Figure 4. - Expansion d'une cellule de Langerhans. Remarquer l'aspect très compact de l'épiderme entourant cette structure, de nombreux desmosomes et dispositifs du type tenon-mortaise (flèches) y sont observables. Le cytoplasme de la cellule de Langerhans est beaucoup moins dense que celui des kératinocytes. Il contient cependant d'assez nombreux ribosomes, des saccules de réticulum endoplasmique dont certains se continuent en vésicules formant ainsi des images en raquette (tête de flèche). Les granules de Langerhans se présentent comme de fins bâtonnets denses aux électrons. Les mitochondries sont à matrice sombre et présentant de nombreuses crêtes contournées.  
X 10.000

Figure 5. - Autre coupe d'une cellule de Langerhans intéressant la région nucléaire. Des mitochondries identiques sont retrouvées. L'appareil de Golgi est bien développé. De nombreux granules sont situés dans cette zone, ils présentent parfois des images de branchement (flèche).  
X 20.000





BUS  
LAGE

### PLANCHE III

#### Localisation fongique.

Figure 1.— Coupe semi-fine. Infestation primaire (8ème jour). Remarquer l'envahissement massif des couches profondes *stratum corneum* par les éléments fongiques (flèches).

X 400

Figure 2.— Infestation primaire (8ème jour). Microscopie électronique. Mycélium intracellulaire. Des mitochondries assez nombreuses réparties sur une surface réduite laissent supposer une activité intense du dermatophyte. La digestion de la kératine est objectivée par des espaces clairs contigus à la paroi mycélienne (flèches). Les éléments parasitaires sont séparés de l'espace intercellulaire par un liseré de kératine, parfois très mince, constitué par les enveloppes des cellules cornées (Ec.).

X 27.000

Figure 3.— Réinfestation (4ème jour). Image analogue à la figure 1, mais ici le mycélium est très superficiel, au niveau du *stratum disjunctum*, et, semble-t-il, extracellulaire.

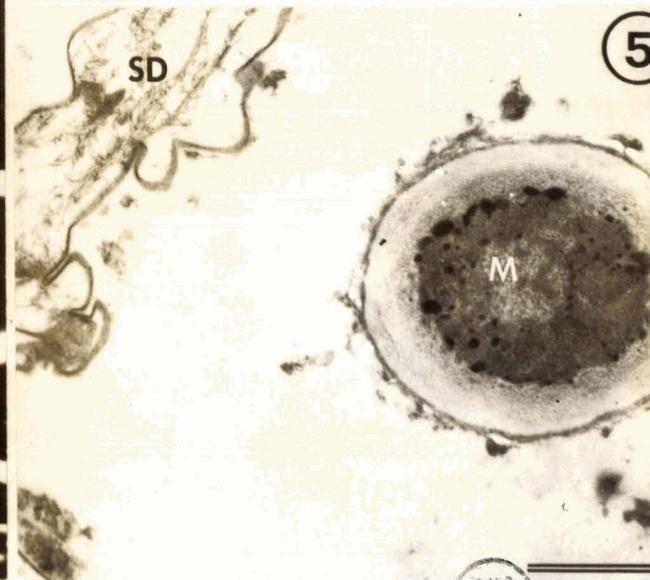
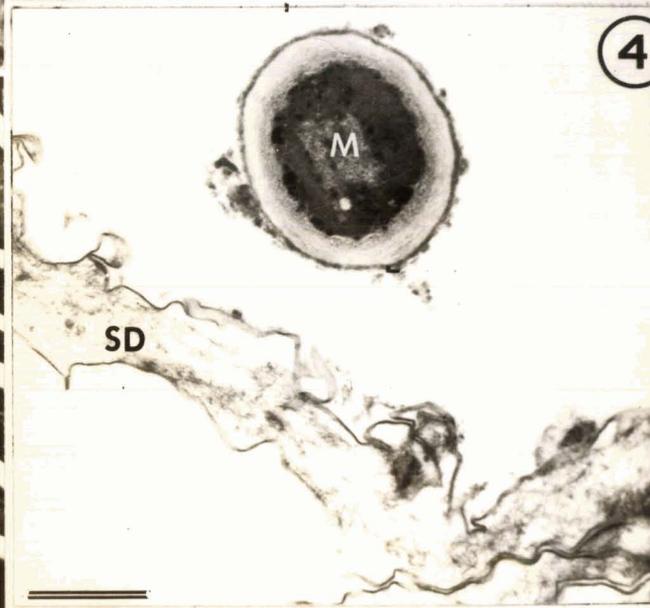
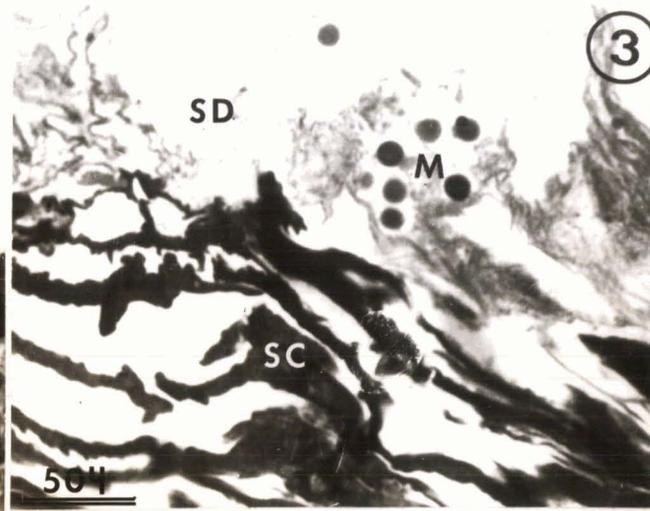
X 600

Figures 4 et 5.— Réinfestation (4ème jour). Détail en microscopie électronique de la localisation fongique extracellulaire : il est impossible d'identifier des organites cytoplasmiques chez le dermatophyte contrairement à la figure 2. Ce fait pourrait traduire la souffrance du mycélium mais plus vraisemblablement étant donné l'épaisseur relative de la paroi, il s'agit là d'aleuries n'ayant pas germé. Nous avons remarqué par ailleurs qu'il s'agissait de formes particulièrement difficiles à fixer. Quoiqu'il en soit, ces micrographies comparées aux précédentes semblent traduire l'impossibilité du mycélium à se développer dans les phanères lors de la réinfestation.

Fig. 4 X 15.000

Fig. 5 X 20.000





BUS  
LILLE

PLANCHE IV

Modifications de l'épiderme parasité.

Figure 1.— Réinfestation ( 4ème jour). Jonction dermo-épidermique. Infiltration cellulaire importante du derme sous la membrane basale. Les cellules épidermiques sont disjointes et ne forment plus un ensemble compact (comme sur la planche II, fig. I). Les dispositifs d'attache du type tenon-mortaise sont dissociés.  
X 10.000

Figure 2.— Infestation primaire ( 13ème jour). *Stratum corneum*. Les kératinocytes montrent des images de lyse. Les mitochondries notamment sont entièrement détruites (flèches). Dans certaines cellules, les tonofilaments se disposent en faisceaux épais de manière anarchique.  
X 7.500

Figure 3.— Réinfestation (4ème jour). *Stratum corneum*. Cellule cornée aberrante, structures kératinisées disposées en labyrinthe, il pourrait s'agir là du résultat de l'évolution de structures analogues à celle de la figure 2 vers la surface épidermique.  
X 24.000

Figure 4.— Réinfestation (4ème jour). Nombreux méats observés dans les cellules cornées. Ils traduisent des altérations du processus de kératinisation.  
X 16.000

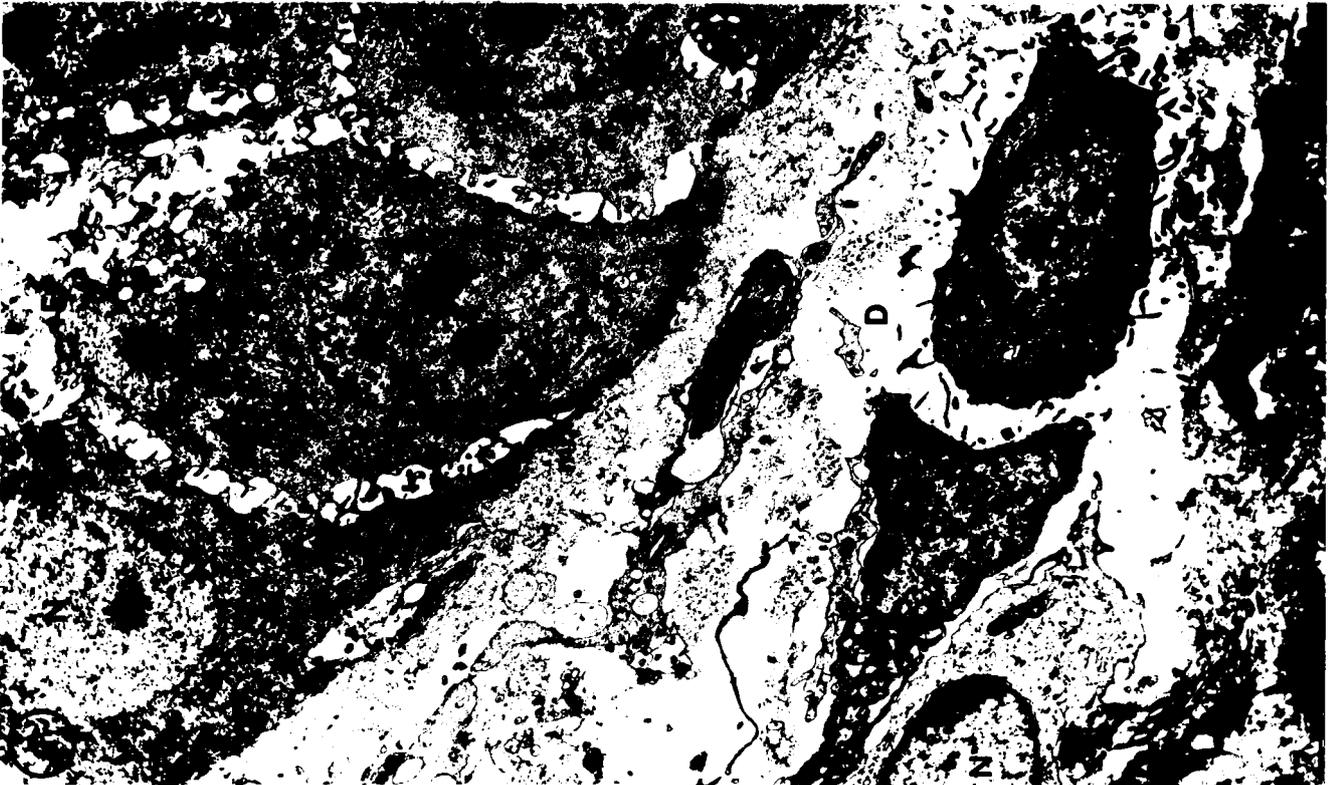
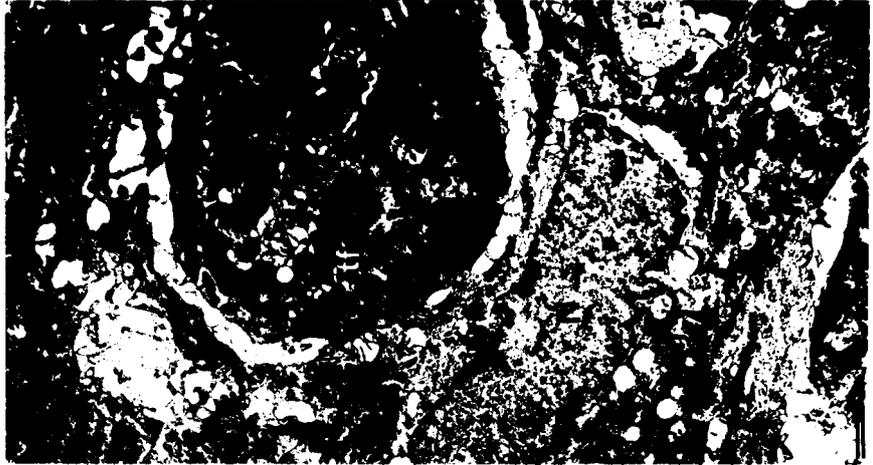
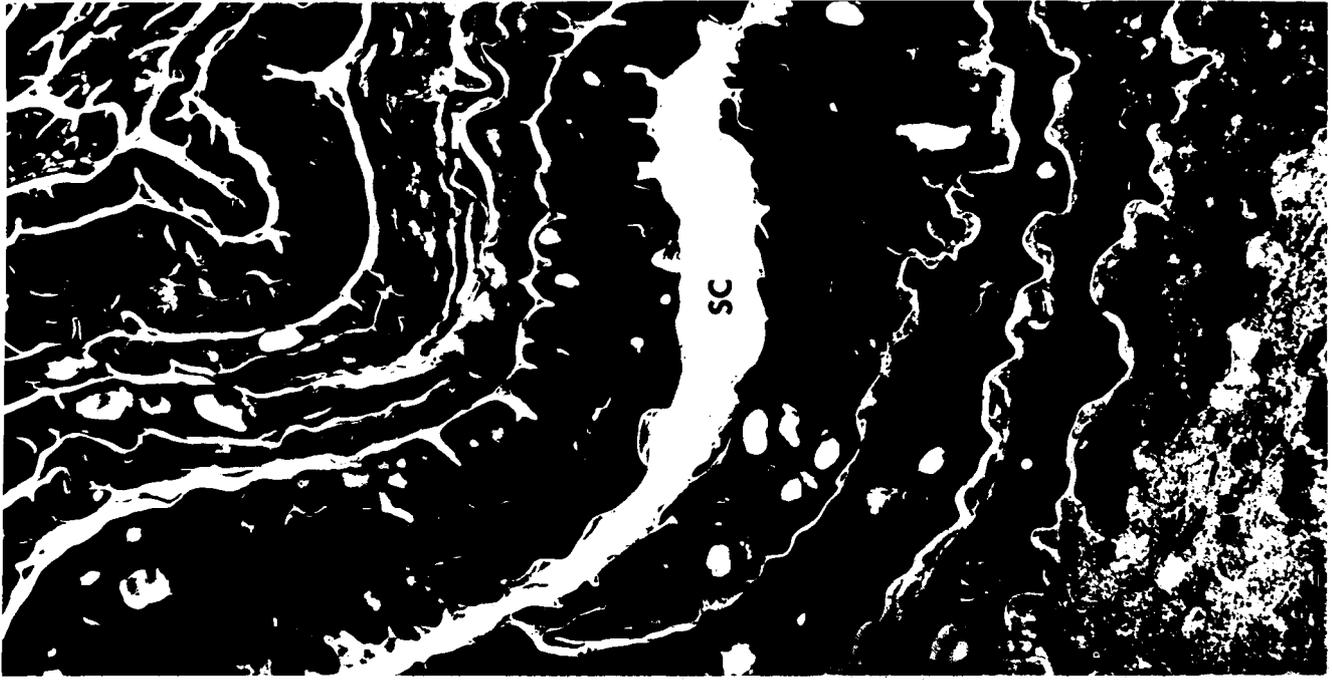


PLANCHE V

Altérations de l'épiderme parasité.

Figure 1.— Infestation primaire (8ème jour). *Stratum spinosum*. Saccules ergastoplasmiques distendus et polyribosomes en grande quantité dans le cytoplasme traduisent une synthèse protéique anarchique.

Remarquer l'épaisseur de l'espace périnucléaire qui, par contre, apparaît normale.

X 15.000

Figure 2.— Réinfestation (4ème jour). Image du même type que celle de la figure 1, mais au niveau du *stratum granulosum*.

X 19.000

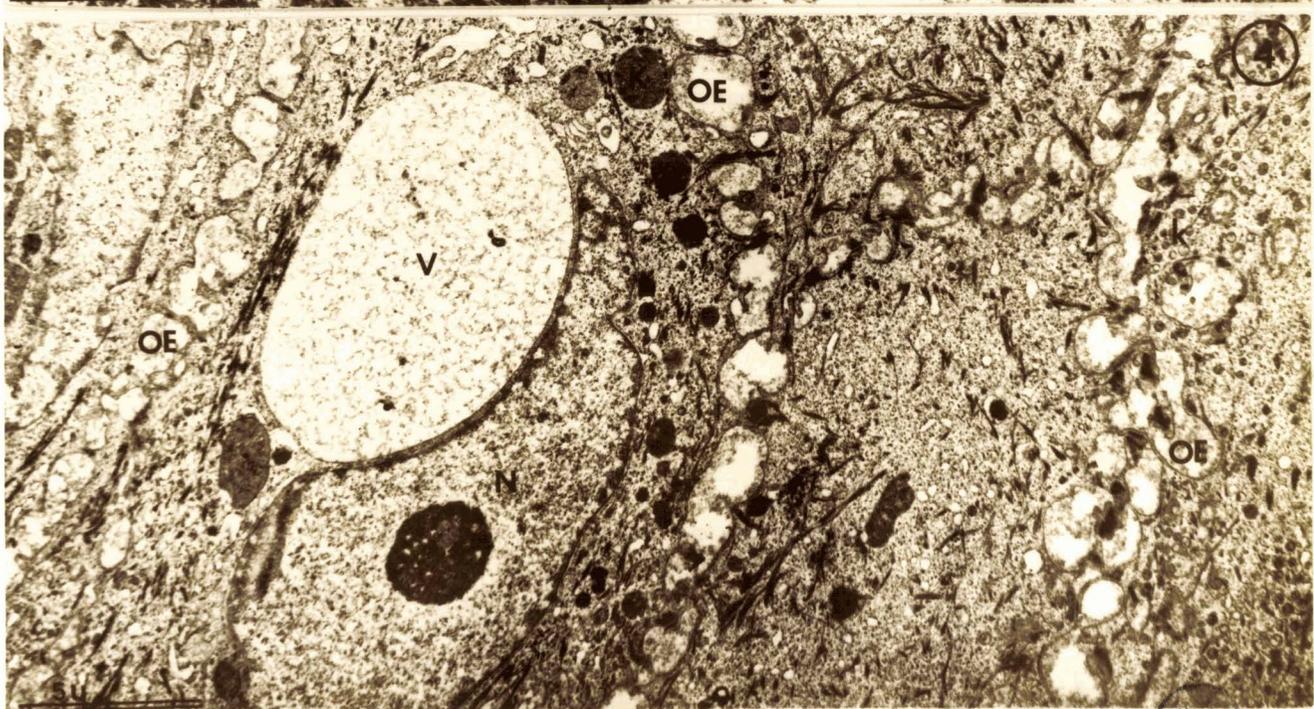
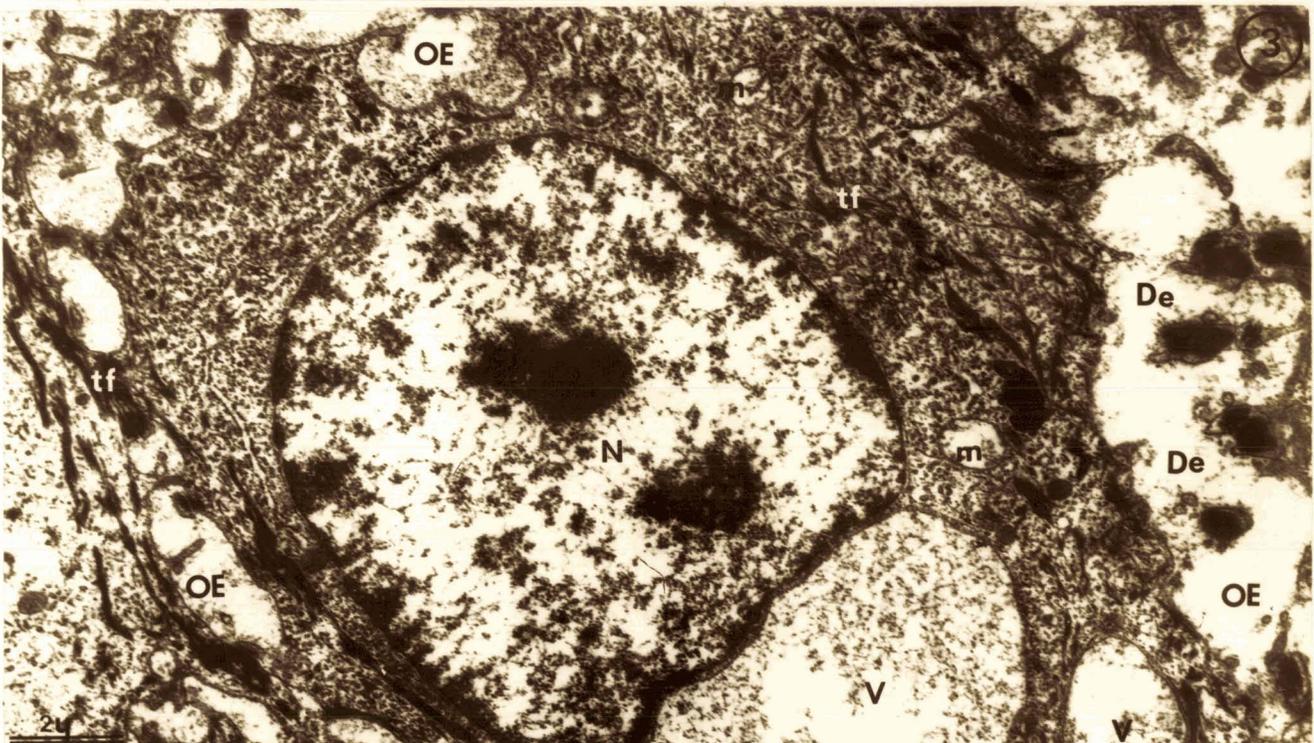
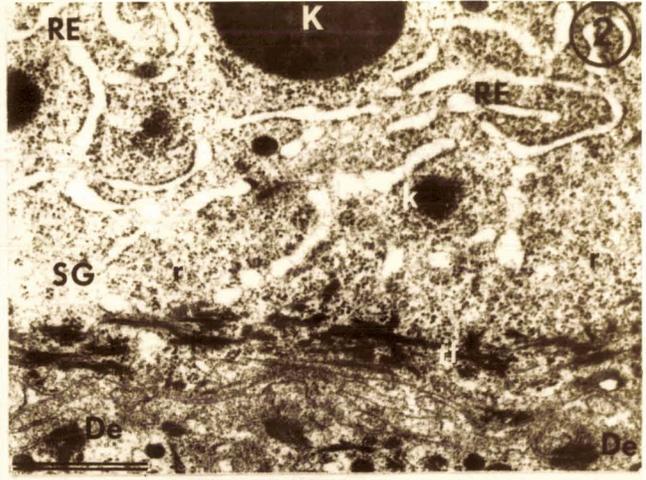
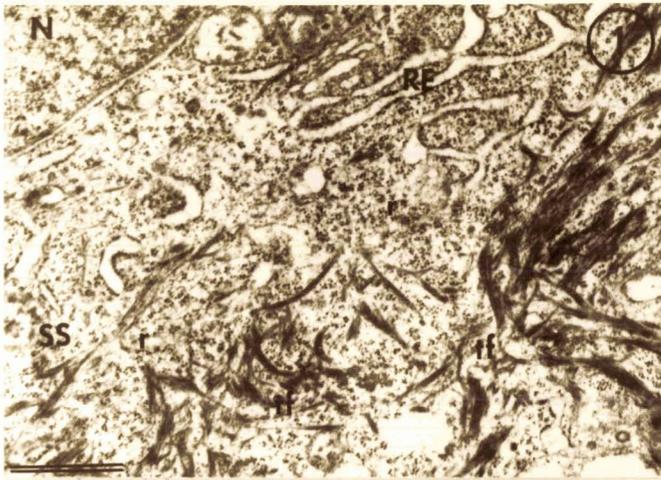
Figure 3.— Infestation primaire (13ème jour). Kératinocyte très endommagé. Les crêtes et la matrice des mitochondries ont disparu, le noyau et le cytoplasme sont altérés. Le cytoplasme est rompu à proximité du desmosome. Des vacuoles se forment notamment à proximité du noyau. Un dépôt granuleux est visible dans la réaction oedémateuse extracellulaire.

X 8.000

Figure 4.— Réinfestation ( 3ème jour). Couches épidermiques disposées concentriquement sur le pourtour d'un follicule pileux. Les cellules montrent moins de signes d'altération que celle de la figure 3 mais une très grosse vacuole est présente à proximité du noyau. Un dépôt de matériel granuleux est également visible dans les espaces intercellulaires.

X 5.000





BUS  
LILLF

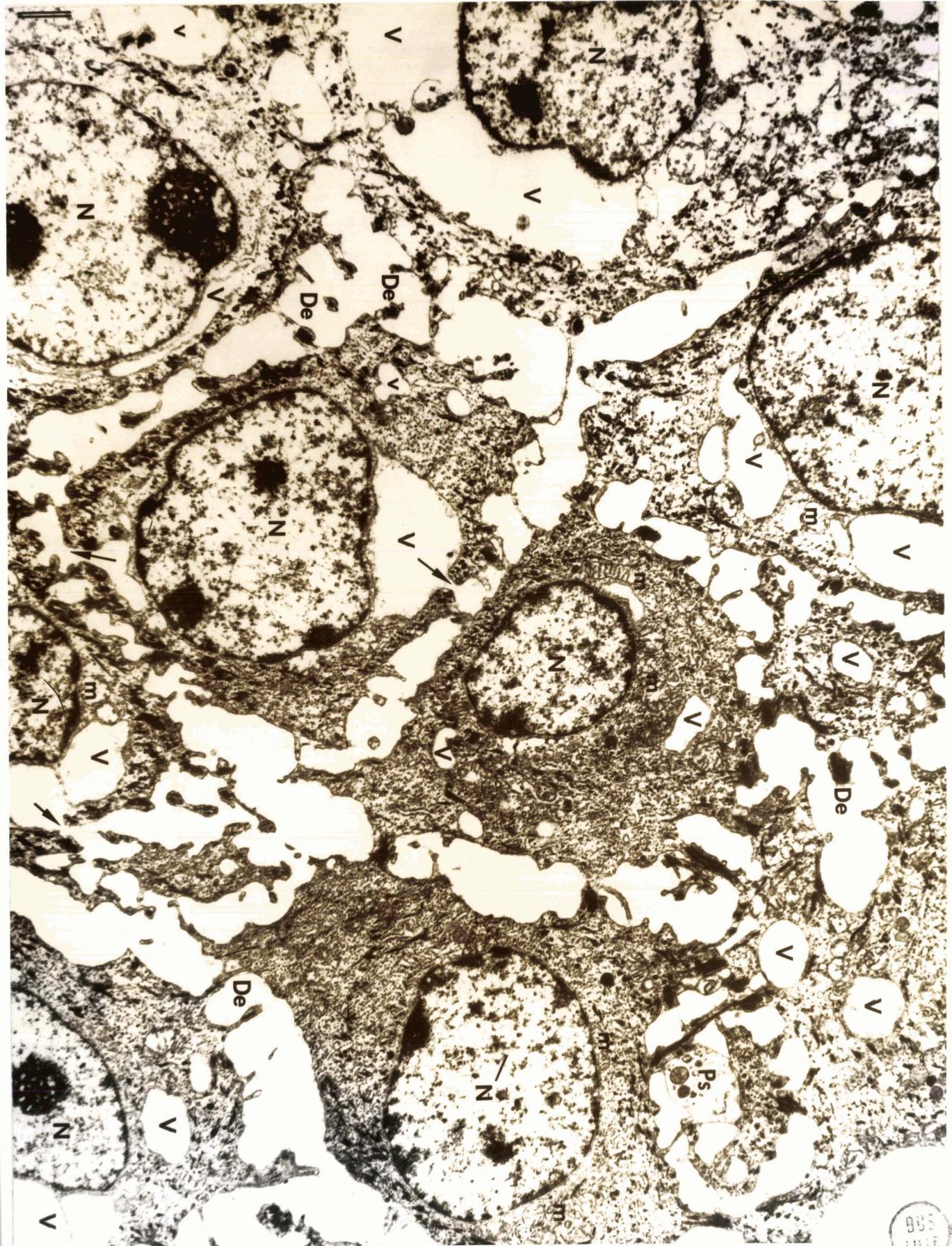


## PLANCHE VI

### Altérations de l'épiderme parasité.

Infestation primaire (13<sup>ème</sup> jour). Zone épidermique très altérée. Les kératinocytes sont fortement dissociés, leur cytoplasme est très étiré et parfois rompu au niveau des desmosomes. Des vacuoles de diverses tailles sont présentes au sein de cellules épidermiques. Dans certains cas, le tonoplaste est au contact du plasmalemme induisant ainsi, par éclatement, la lyse de la cellule. Bien que le grandissement de cette macrographie soit assez faible, on peut remarquer que les cellules peu vacuolisées contiennent des mitochondries bien conservées, alors que ces mêmes organites présentent des signes d'altération lorsque l'oedème intracellulaire est plus marqué.

X 10.000



885  
LILL

## PLANCHE VII

Infestation secondaire 2ème jour.

Figure 2.- Coupe semi-fine; bleu azur. Expansion du derme entre deux papilles épidermiques. Le derme est richement irrigué par des vaisseaux capillaires et par des vaisseaux lymphatiques reconnaissables à leur endothélium plus mince. De nombreuses cellules y sont visibles entre les fibres de collagène. Les cellules épidermiques sont étoilées, reliées uniquement par leurs desmosomes; on note une infiltration importante de cellules (flèches) dans les espaces ainsi délimités.

X 600

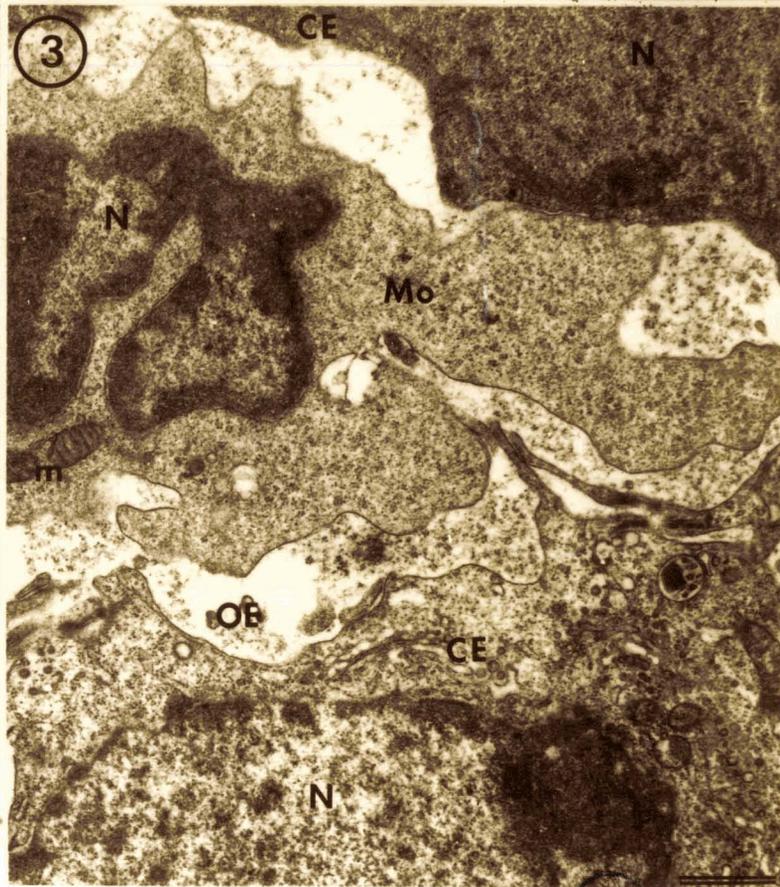
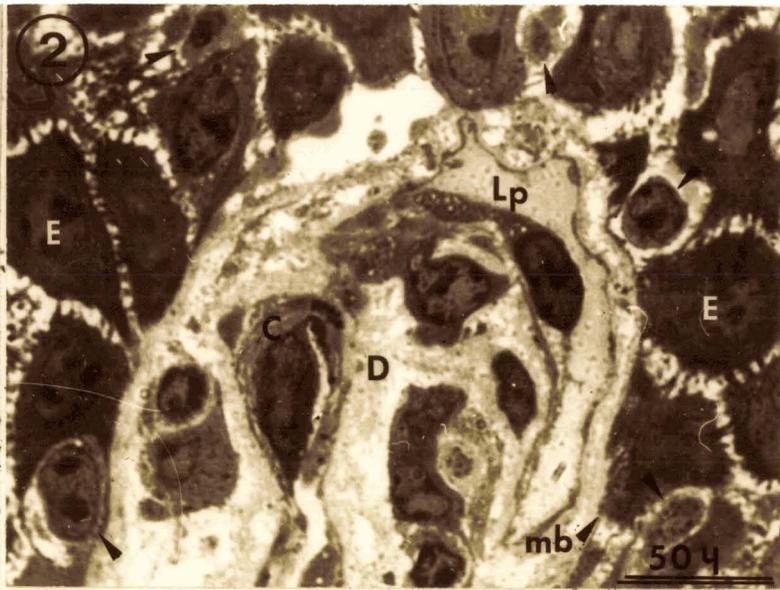
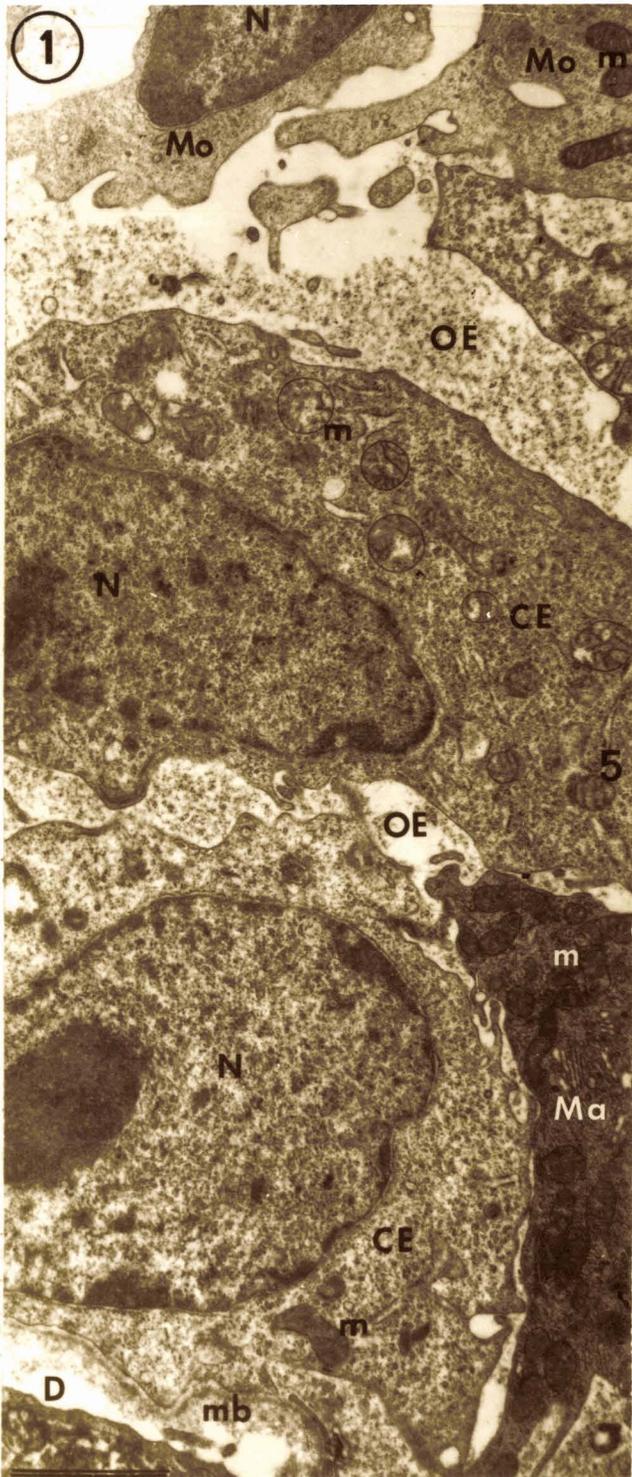
Figure 1.- Jonction dermo-épidermique. Les cellules de la couche germinative restent insérées sur la membrane basale, elles sont par contre séparées les unes des autres par des méats où apparaît une réaction oedémateuse. Les kératinocytes ne présentent pas de signes d'altération évidents mais ne possèdent pas de tonofilaments. Des expansions de cellules que leur morphologie permet d'assimiler à des monocytes et à un macrophage sont situées dans les espaces intercellulaires.

X 10.000

Figure 3.- Cellule de type monocyttaire infiltrée, située entre des cellules du *stratum germinativum* et *stratum spinosum*. Remarquer l'absence de tonofilaments à l'intérieur de la cellule de la couche basale épidermique.

X 12.000





BUS  
LILLE

PLANCHE VIII

Réinfestation, 4ème jour .

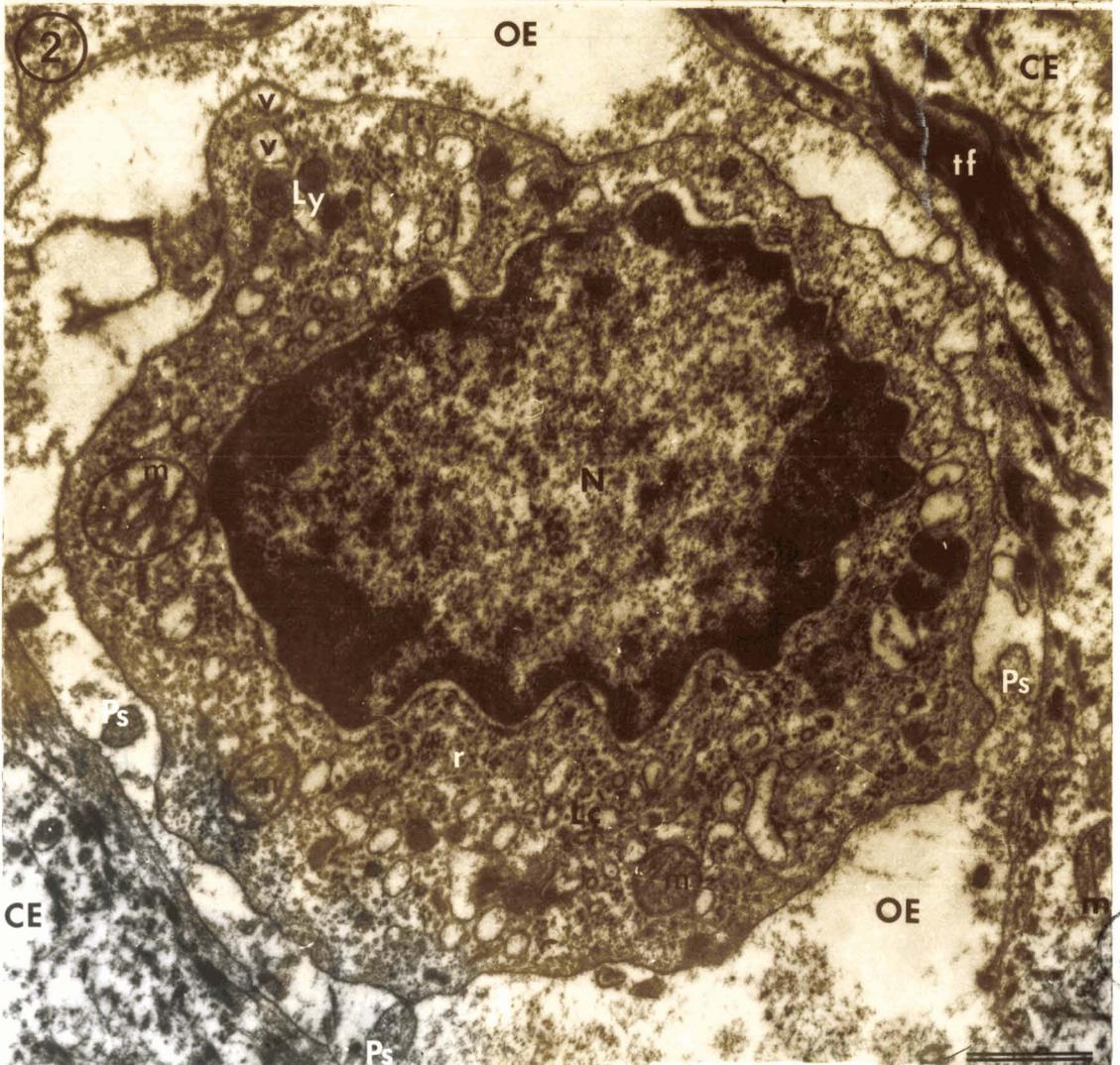
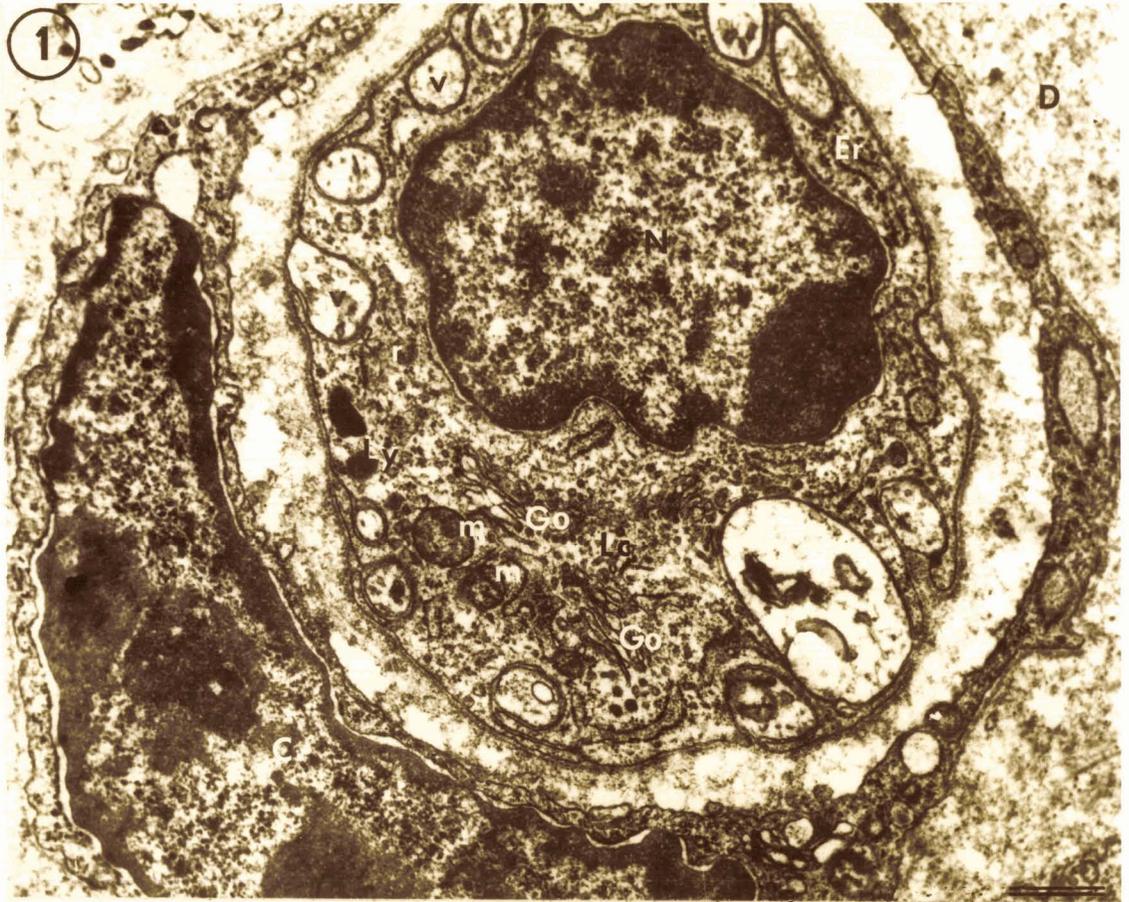
Figure 1..- Cellule présentant les caractères morphologiques d'un lymphocyte activé, à l'intérieur d'un capillaire dermique, à proximité de l'épiderme. Nombreuses images de pinocytose, ribosomes groupés en rosettes, ou disposés sur la face externe de rares saccules ergastoplasmiques; appareil de Golgi situé au voisinage du cytocentre et constitué de nombreux dictyosomes, nombreuses vésicules ou vacuoles de taille et de densité aux électrons variées; certaines de ces vésicules sont assimilables des lysosomes.

X 12.000

Figure 2..- Cellule semblable à celle de la figure 1, située dans le zone oedémateuse apparaissant entre les cellules épidermiques dont on distingue les tonofilaments. Pinocytose ici peu marquée mais présence de fins pseudopodes, et de quelques images de micropinocytose. Les mitochondries de grande taille présentent des crêtes minces et parallèles assez caractéristiques.

X 16.000





BUS  
EPLCP

## PLANCHE IX

Couches moyennes de l'épiderme, cellules infiltrées.

Figure 1.— Réinfestation, 4ème jour. Cellule du type monocytaire entre des kératinocytes ne montrant pas de signes d'altération. Remarquer la faible densité du cytoplasme aux électrons et la présence de faisceaux de filaments périnucléaires.

X 9.000

Figure 2.— Réinfestation, 4ème jour. Sur cette coupe de lymphocyte à l'état quiescent, le cytoplasme ne contient pas d'organites autres que les ribosomes; le noyau est fortement échancré (flèches) et la chromatine nucléaire est très dense. Le gonflement de l'espace périnucléaire, le cytoplasme partiellement dénaturé peuvent être considérés comme des indices de la dégénérescence de cette cellule à l'intérieur de l'épiderme.

X 18.000

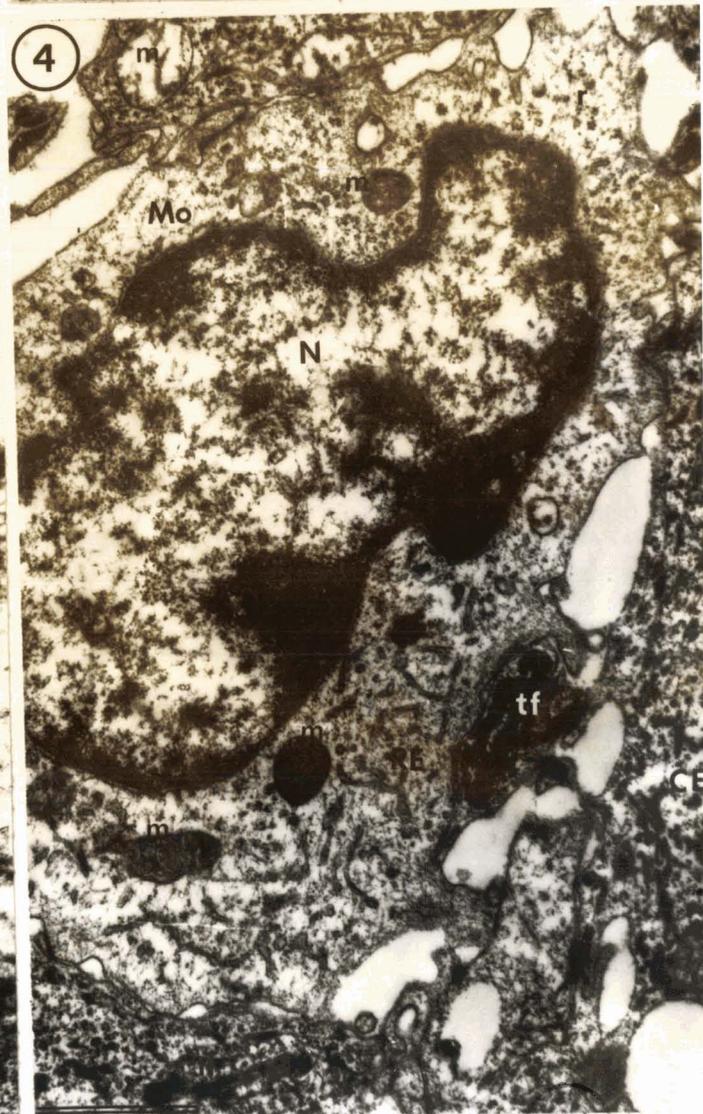
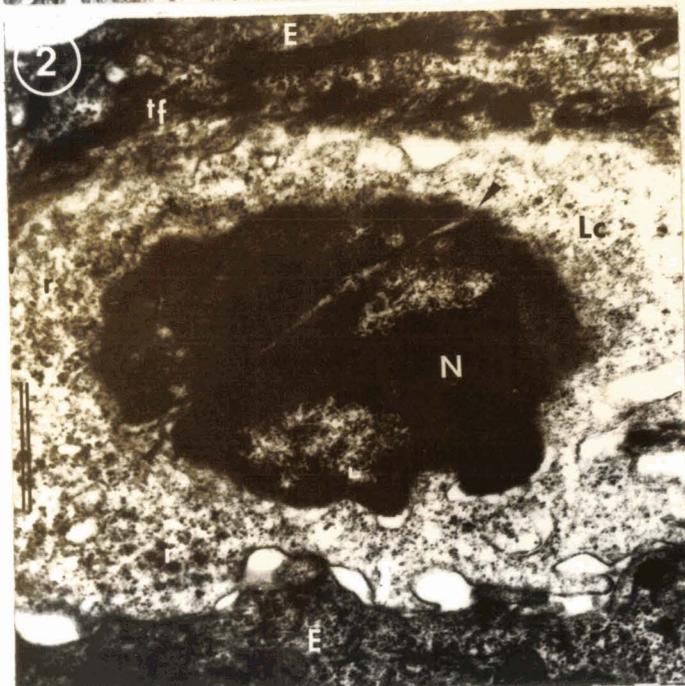
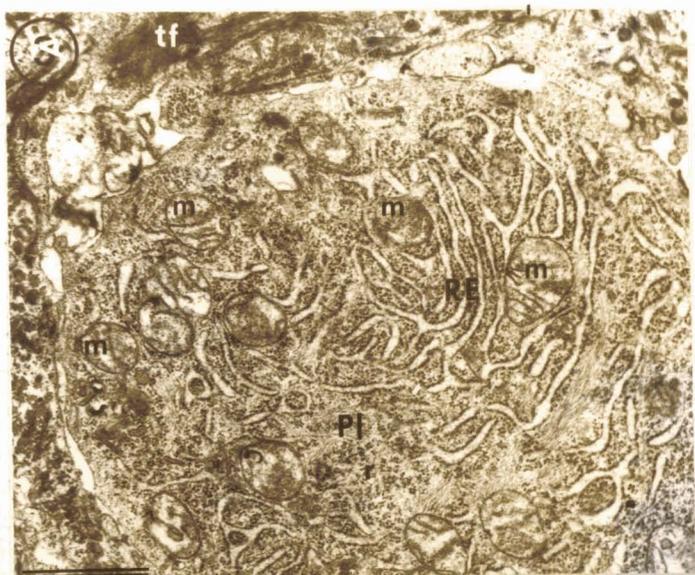
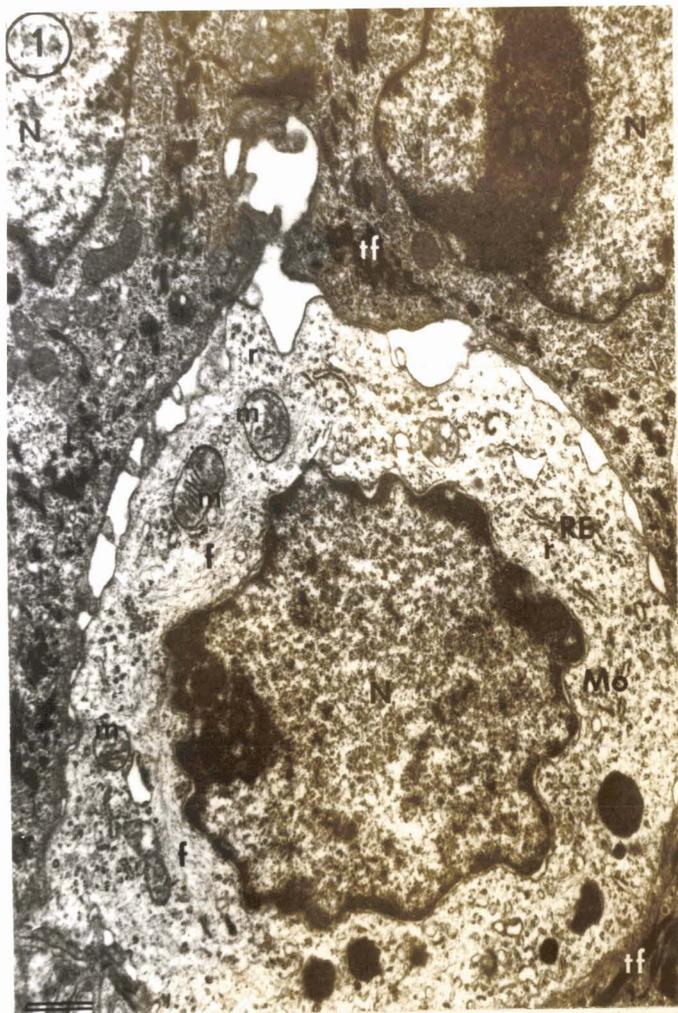
Figure 3.— Infestation primaire, 7ème jour. Expansion d'une cellule visiblement distincte des kératinocytes et assimilable à un plasmocyte. On y distingue un réticulum endoplasmique très développé, dans les espaces délimités entre les saccules ergastoplasmiques se trouvent de nombreux polysomes et une grande quantité de mitochondries.

X 17.000

Figure 4.— Infestation primaire, 13ème jour. Cellule du type monocytaire; certaines expansions de cette cellule englobent un faisceau de tonofilaments relié à un desmosome. L'aspect très contourné des tonofilaments provient vraisemblablement de la rupture cytoplasmique du kératinocyte à proximité du desmosome. Remarquer les mitochondries peu altérées de la cellule infiltrative alors que ces mêmes organites montrent des images de lyse dans les structures épidermiques avoisinantes.

X 22.000





100

PLANCHE X

Altérations de l'épiderme. Cellules infiltrées. Couches moyennes épidermiques.

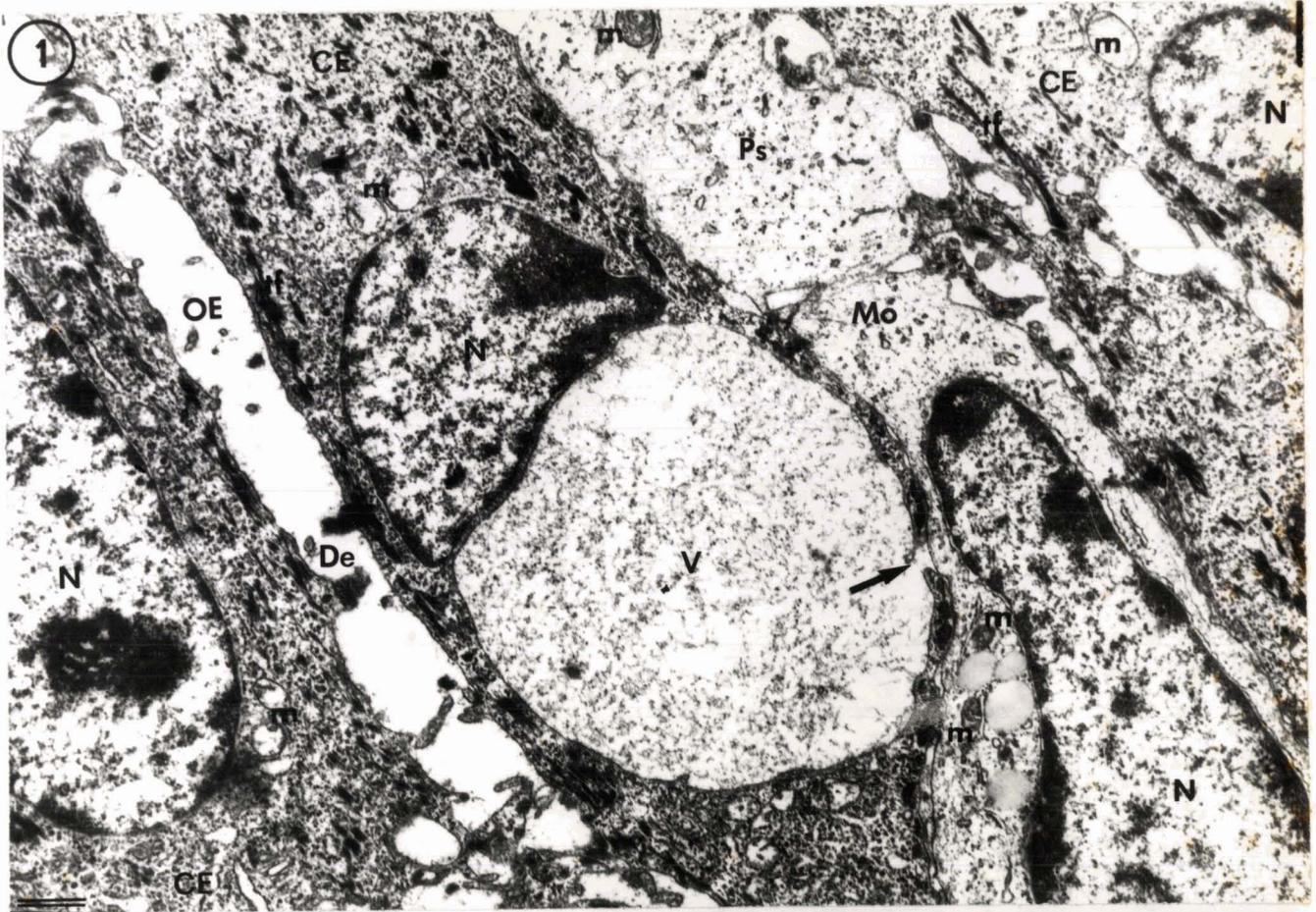
Figure 1.— Infestation primaire, 13<sup>ème</sup> jour. Cellule de type monocytaire se déplaçant dans les espaces entre les cellules épidermiques par émission de pseudopodes. Remarquer la présence d'oedème intracellulaire dans la cellule épidermique; dans le cas présent on constate l'éclatement de la vacuole au contact du macrophage (flèche). Remarquer, par ailleurs, la rupture des jonctions entre les cellules épidermiques ainsi que les mitochondries de ces mêmes cellules, très altérées, alors que les mitochondries de la cellule infiltrative paraissent intactes.

X 10.000

Figure 2.— Réinfestation, 4<sup>ème</sup> jour. Deux cellules présentant la morphologie de monocytes et une expansion de cellule de type macrophagique sont ici situées dans la même zone épidermique. Elles se trouvent à proximité de kératinocytes déformés mais ne présentant pas de signes d'altération apparents.

X 17.000



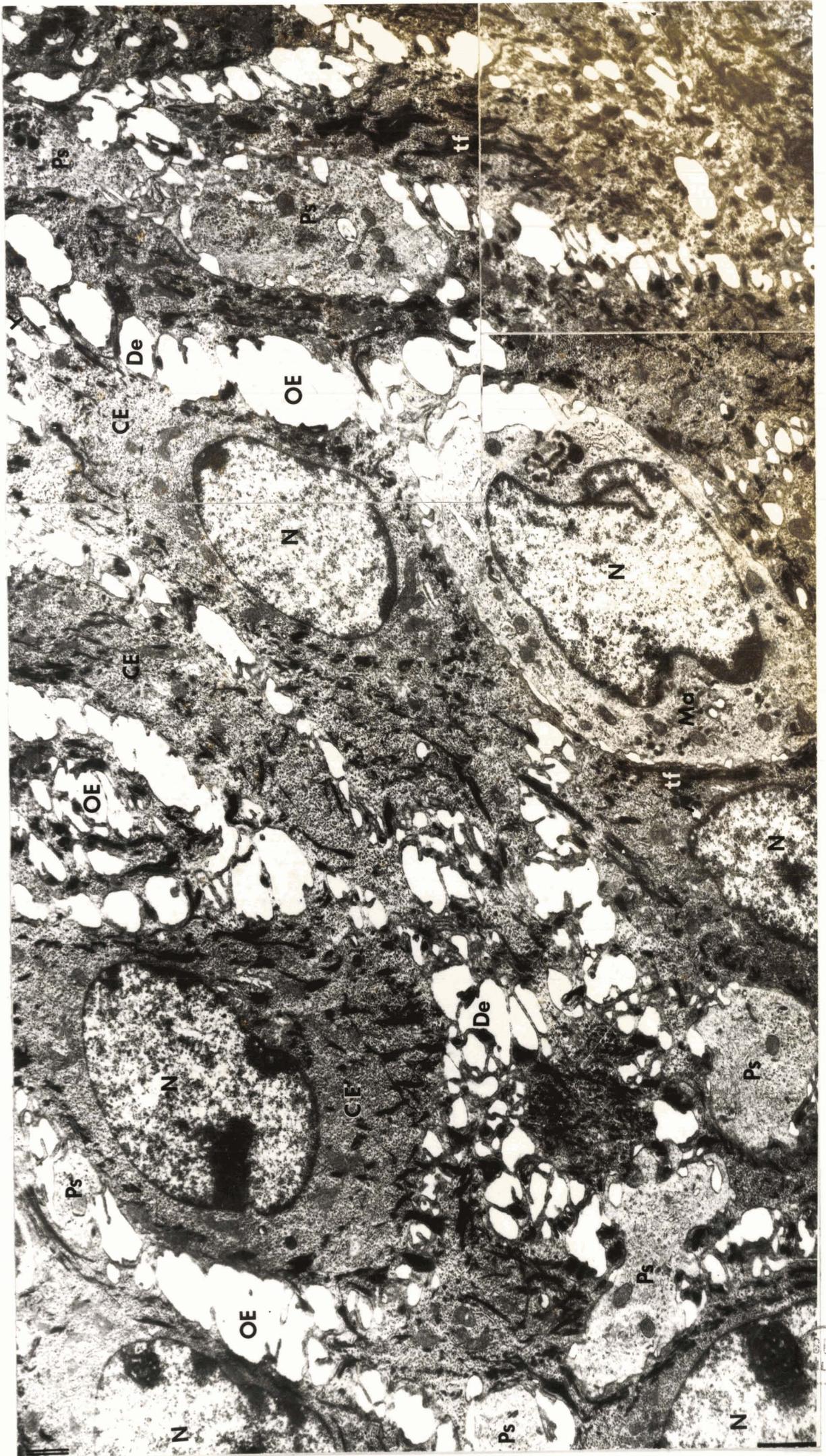




## PLANCHE XI

Réinfestation 4ème jour. Montage de plusieurs micrographies permettant d'observer une cellule de type macrophagique se déplaçant dans les mailles du réseau formé par les cellules épidermiques étoilées. Les kératinocytes, en effet, ne sont plus reliés entre-eux que par leur cytoplasme distendu à proximité des desmosomes. De nombreux pseudopodes, dont certains appartiennent très vraisemblablement au corps de la cellule intéressée par la coupe, sont identifiables.

X 8.000



US  
LLF

PLANCHE XII

Réinfestation, 4<sup>ème</sup> jour. Montage de deux micrographies : début de l'individualisation d'une cellule géante. Des cellules à morphologie intermédiaire entre le monocyte et le macrophage se regroupent dans les couches moyennes de l'épiderme, repoussant en périphérie les cellules épidermiques. Les plasmalemmes des cellules infiltratives sont fortement imbriqués. Les kératinocytes contigus sont très déformés et leurs faisceaux de tonofilaments forment une couronne concentrique à la cellule géante.

X 8.000





PLANCHE XIII

Couches superficielles épidermiques.

Figure 1. - Infestation primaire, 13<sup>ème</sup> jour. Cellule de type plasmocytai-  
re arrivant dans la zone oedémateuse à partir de laquelle s'effectue un  
décollement des couches supérieures à l'épiderme.

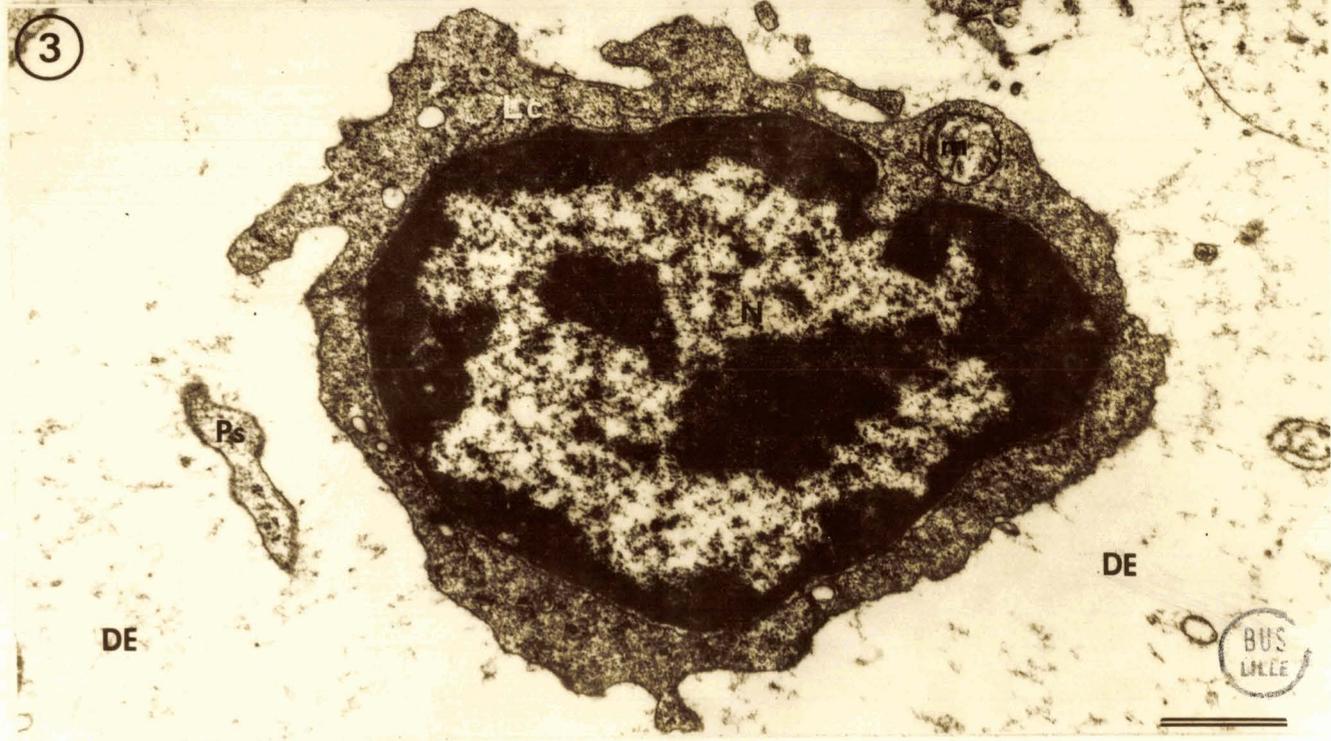
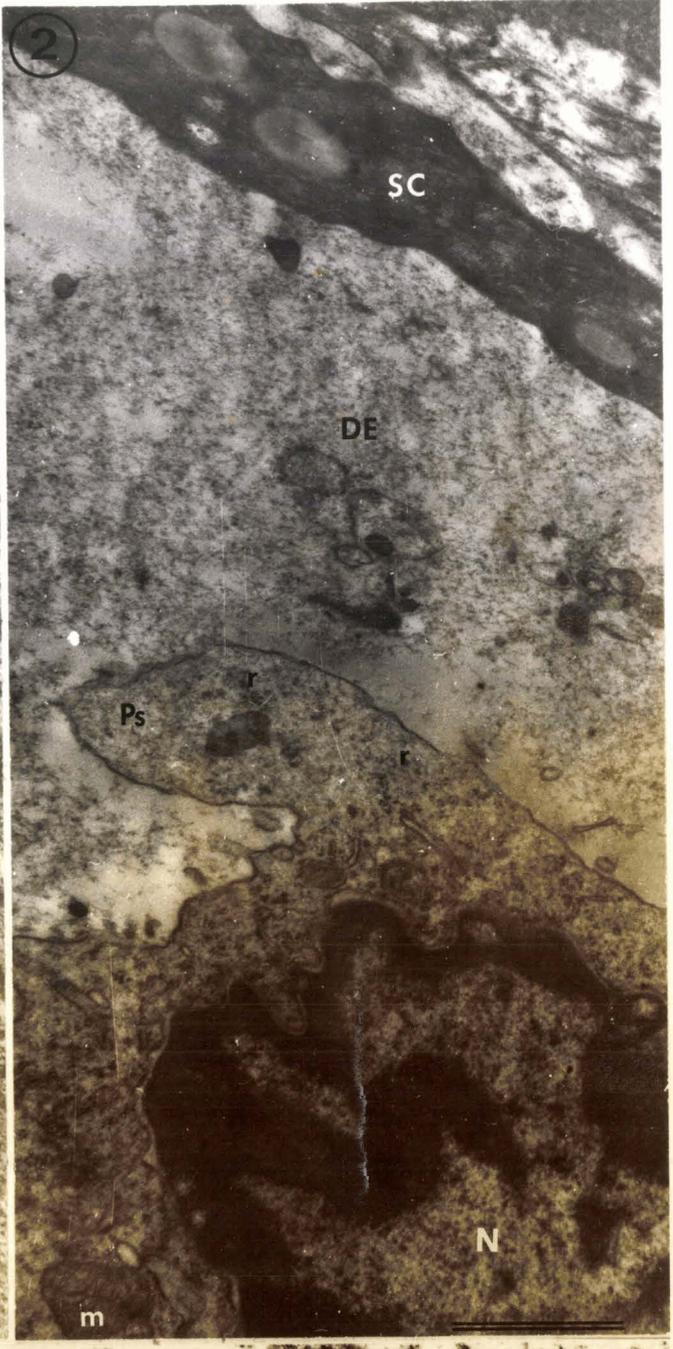
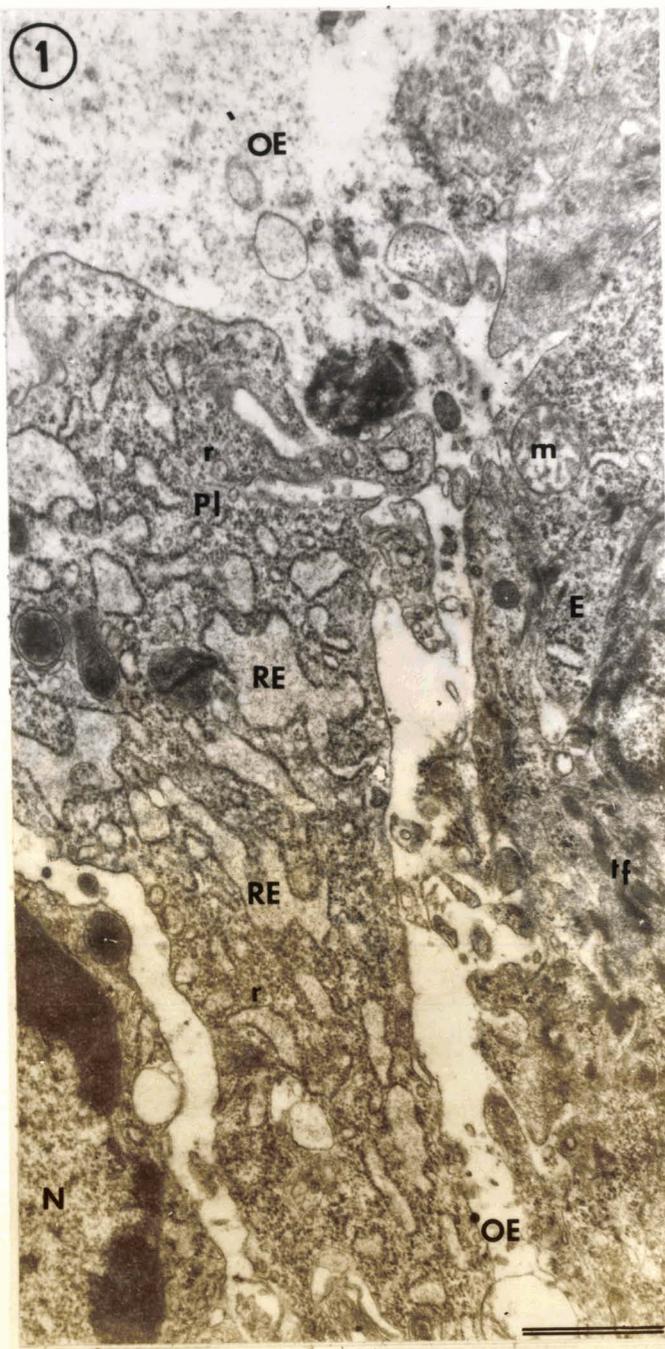
X 20.000

Figure 2. - Infestation primaire, 12<sup>ème</sup> jour. Cellule migrante ayant tra-  
versé toutes les couches épidermiques et parvenue au niveau du *stratum*  
*corneum*. Remarquer en plus de la réaction oedémateuse l'existence de nom-  
breux débris cellulaires à ce niveau.

X 24.000

Figure 3. - Infestation primaire, 12<sup>ème</sup> jour. Cellule de type lymphocytai-  
re bien conservée, émettant de nombreux pseudopodes, située également au  
niveau du *stratum corneum* parmi les débris d'autres cellules.

X 18.000



BUS  
M.L.E.E.

PLANCHE XIV

Réinfestation, 4<sup>ème</sup> jour. Cellules migrantes  
au niveau du *stratum corneum*.

Figures I et 2..- Coupes semi-fines. Bleu azur. Cellules migrantes parvenues entre les couches cornées (flèches). Les nombreuses vacuoles observées chez certaines de ces cellules peuvent être interprétées comme un étalement très marqué de macrophages ou comme de figures de lyse cellulaire.

Fig. I X 600

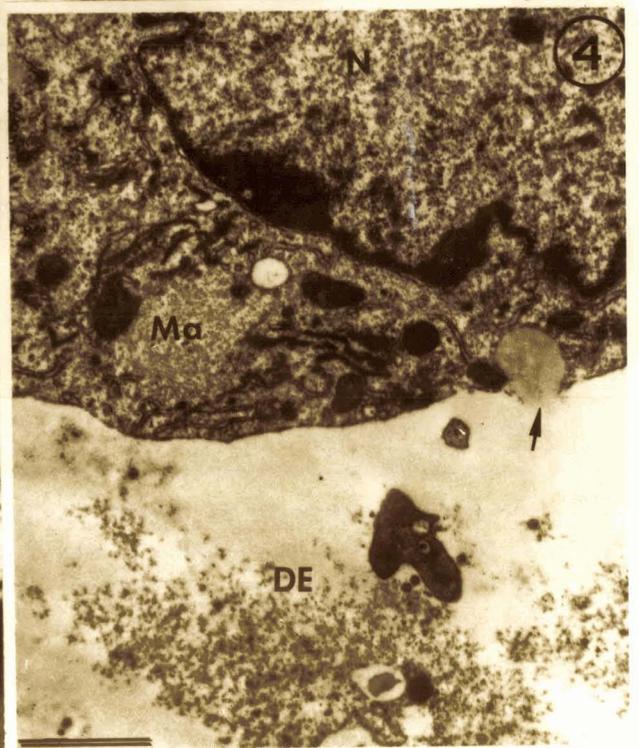
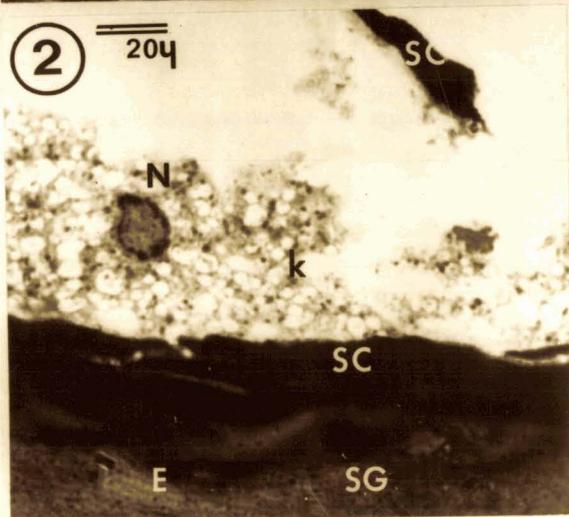
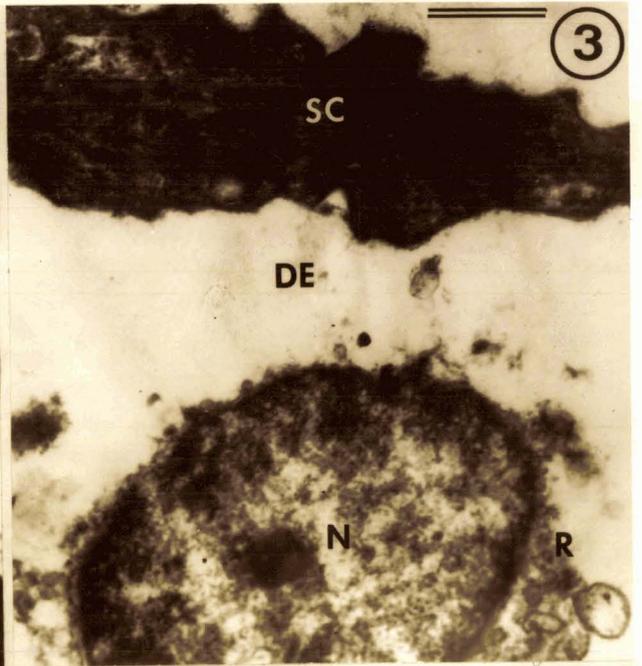
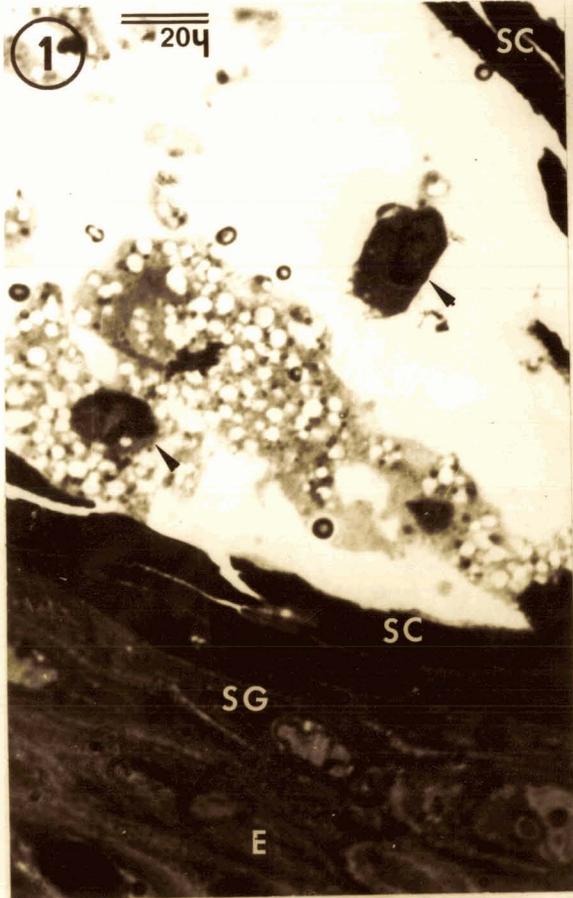
Fig. 2 X 450

Figure 3..- Restes nucléaires d'une cellule dont il est manifeste qu'elle fut en contact avec les cellules cornées, lieu de localisation fongique.  
X 15.000

Figure 4..- Détail d'un macrophage situé au même niveau, remarquer les échanges entre cette cellule et le milieu extérieur par pinocytose ou exocytose (flèche).

X 10.000





BUS  
LILLE

PLANCHE XV

Détails des cellules du système phagocytaire mononucléaire infiltrées dans l'épiderme. Infestation secondaire, 4ème jour.

Figures I et 2.— Dispositifs d'engrènement des plasmalemmes de cellules contiguës au sein d'une cellule géante. Il est probable que la figure I corresponde à une coupe longitudinale de dispositifs analogues à ceux coupés transversalement sur la figure 2 (flèches). La configuration stérique de ces structures d'attache est alors perceptible et on remarque qu'il s'agit là d'un ensemble très cohérent. L'édification d'un tel enchevêtrement traduit un état d'activation très marqué de ces cellules en relation avec l'hypersensibilité retardée.

Fig. I X 20.000

Fig. 2 X 15.000

Figure 3.— Pseudopode d'une cellule macrophagique insinué entre les cellules épidermiques. Remarquer les nombreuses microvillosités qui peuvent d'ailleurs se dichotomiser, ainsi que le faisceau de filaments cytoplasmiques situé à proximité du plasmalemme.

X 21.000

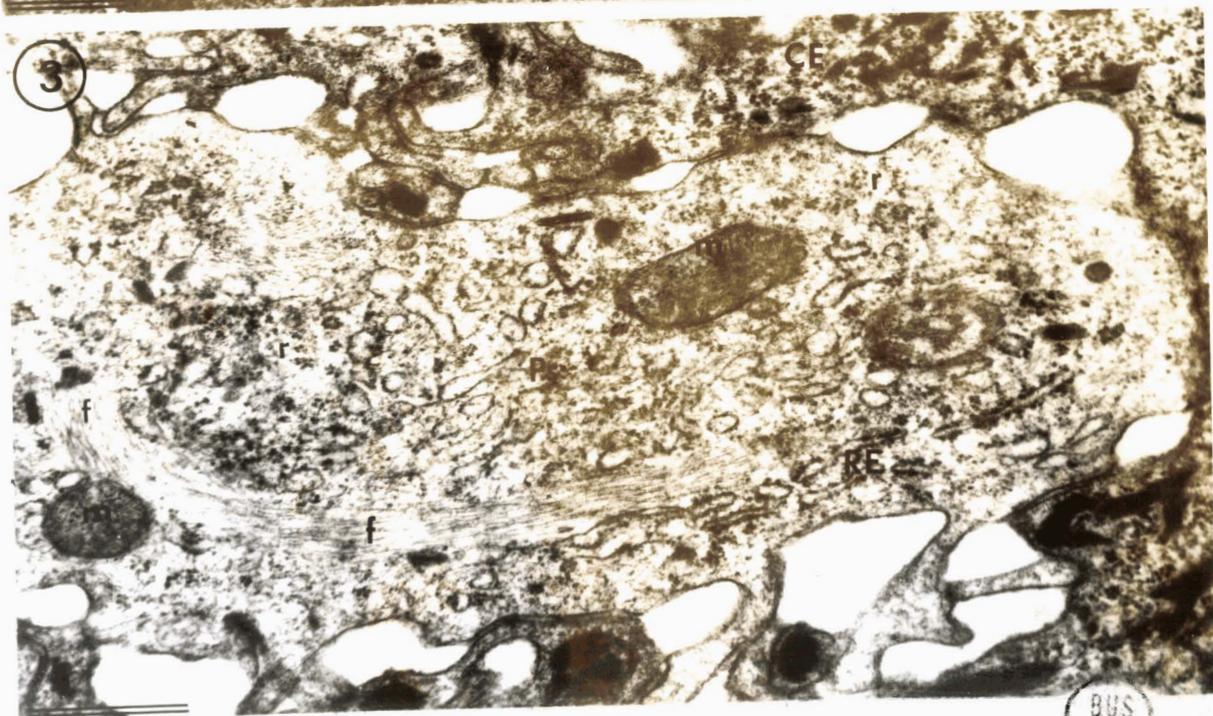
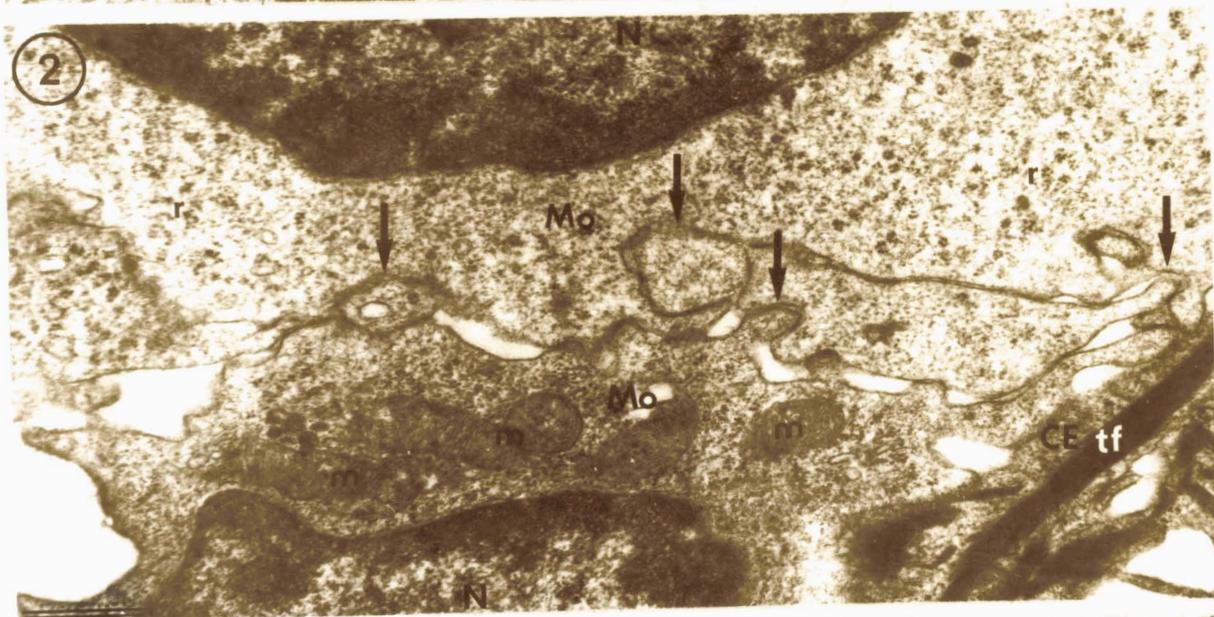
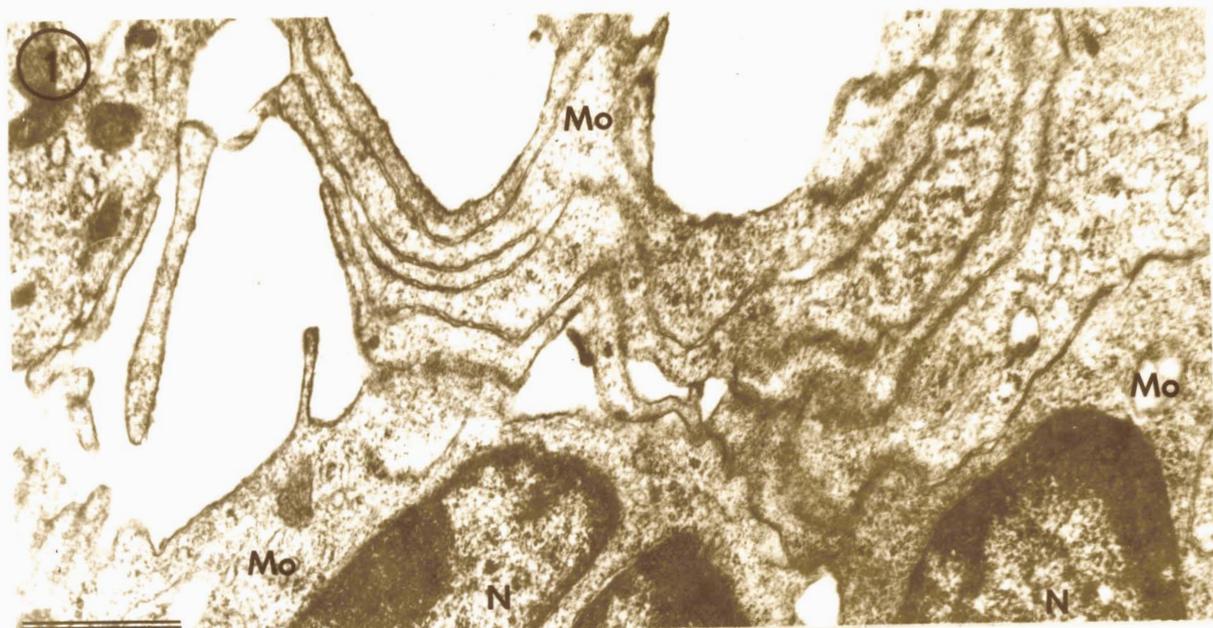


PLANCHE XVI

Paroi de la forme saprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*

Figures 1, 2 et 3 : Coupes contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb. Sur toutes ces micrographies, la paroi est formée de 2 couches  $P_I$  et  $P_2$  .

Figure 1. - Coupe longitudinale d'une hyphe jeune dont le cytoplasme est riche en organites.

X 27.000

Figure 2. - Coupe longitudinale d'une hyphe âgée à cytoplasme très vacuolisé.

X 27.000

Figure 3. - Détail d'une hyphe en activité métabolique intense. Remarquer un lobe nucléaire à proximité de la paroi dont la couche interne paraît ici très homogène.

X 40.000

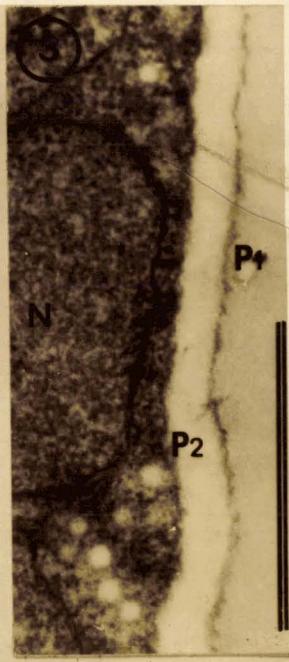
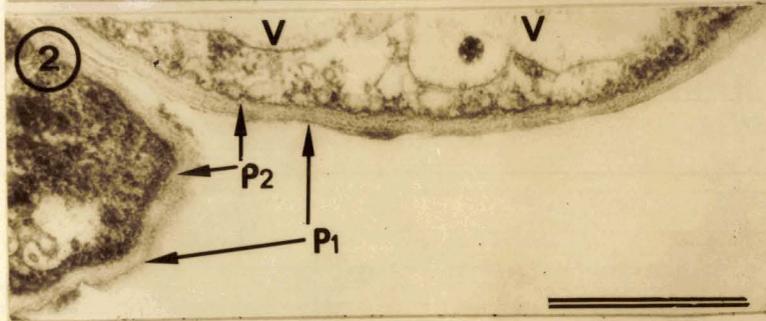
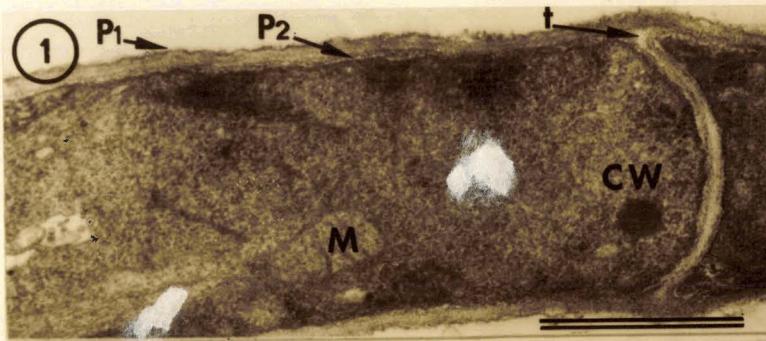
Figures 4 et 5 : Coupe après réaction de Thiery (24 h d'action du T.C.H.).

Figure 4. - Niveau d'insertion d'une aleurie sur un fragment mycélien septé. Remarquer essentiellement la lame pariétale dénommée  $P_I$  qui entoure l'aleurie, y compris au niveau de la zone de contact avec le mycélium (flèches).

X 42.000

Figure 5. - Aleurie détachée du mycélium qui lui a donné naissance. La structure de type  $P_I$  observée à la base de la spore sur la figure précédente est dissociée en plusieurs fibrilles dont certaines ont une structure du type double membrane. Cette dissociation de  $P_I$  en fibrilles constitutives fait vraisemblablement suite à la libération de l'aleurie.

X 32.000



BUS  
LILLIF

PLANCHE XVII

Paroi de la forme saprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*.

Coupes après réaction de Thiery (24 h d'action du T.C.H.),  
Hyphes en activité métabolique intense. Remarquer le glycogène disposé  
à la périphérie du cytoplasme réagissant très fortement. Les organites  
tels que noyaux et mitochondries sont peu contrastés et apparaissent  
"en négatif". Les membranes externes et internes des lomasomes sont,  
au contraire, très marquées.

Figure 1.— Sur cette micrographie, les 3 couches constitutives de la  
paroi mycélienne de *Trichophyton mentagrophytes* ( $P_I$ ,  $P_{2a}$ ,  $P_{2b}$ ) sont  
bien différenciées.

X 25.000

Figure 2.— Une coupe oblique de  $P_I$  fait apparaître des fibrilles iden-  
tiques à celles déjà observées sur la planche II figure 4 (flèches).  
L'organisation de ces fibrilles est également du type double membrane  
(double flèche). En certains points,  $P_2$  est dissociable en deux couches  
de densité différente aux électrons :  $P_{2a}$  externe et de densité moyenne  
 $P_{2b}$  situé contre le plasmalemma et de forte densité.

X 30.000





BUS  
LILLE

PLANCHE XVIII

Paroi de la forme seprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*.

Coupe après réaction de Thiery (24 h d'action du T.C.H.).

Figure 1.— Coupe longitudinale d'un élément mycélien de gros diamètre.  $P_2$  est bien dissociable en  $P_{2a}$  et  $P_{2b}$ . Lorsque la paroi est coupée obliquement (elle apparaît alors plus épaisse), une orientation microfibrillaire concentrique au corps du mycélium peut être décelée (flèches). Ceci n'est pas observable en d'autres zones de la micrographie où la paroi est coupée perpendiculairement (doubles flèches).

X 25.000

Figure 2.— Coupe tangentielle de  $P_2$  montrant de façon évidente une organisation périodique distribuée concentriquement au cylindre mycélien. L'alternance de polysaccharides de forte et de faible réactivité se situe environ tous les  $200 \text{ A}^\circ$ .

X 55.000

Figure 3.— Mycélium riche en organites. Les couches constitutives de la paroi sont ici très visibles. La séparation entre les 2 éléments cellulaires contigus présente une structure particulière : une zone médullaire dense aux électrons dont l'origine est en relation avec la paroi. Il pourrait s'agir de la formation préluant à l'individualisation d'une macroconidie.

X 30.000



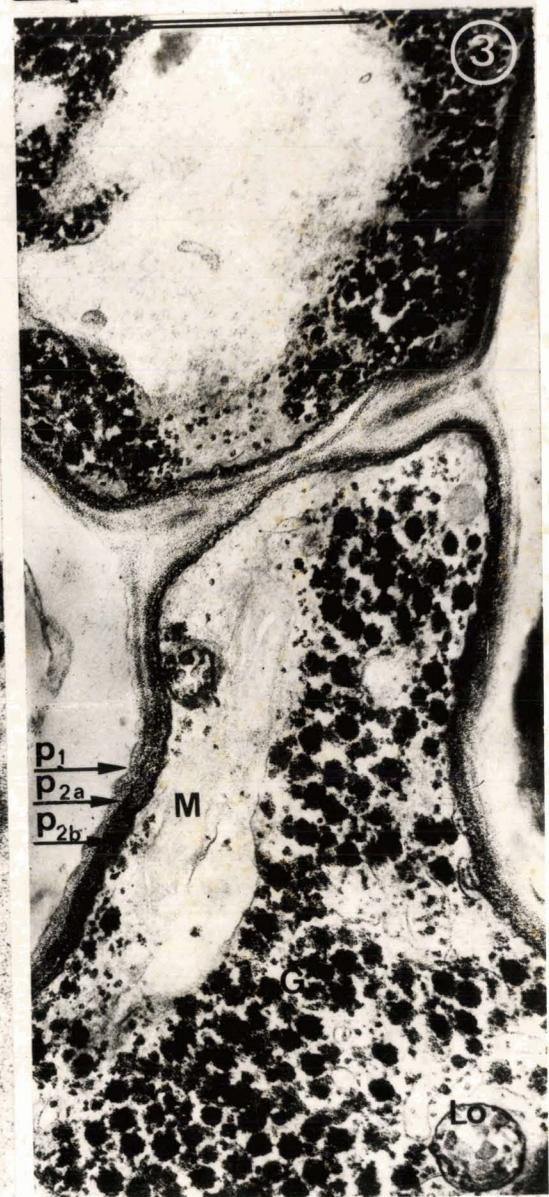
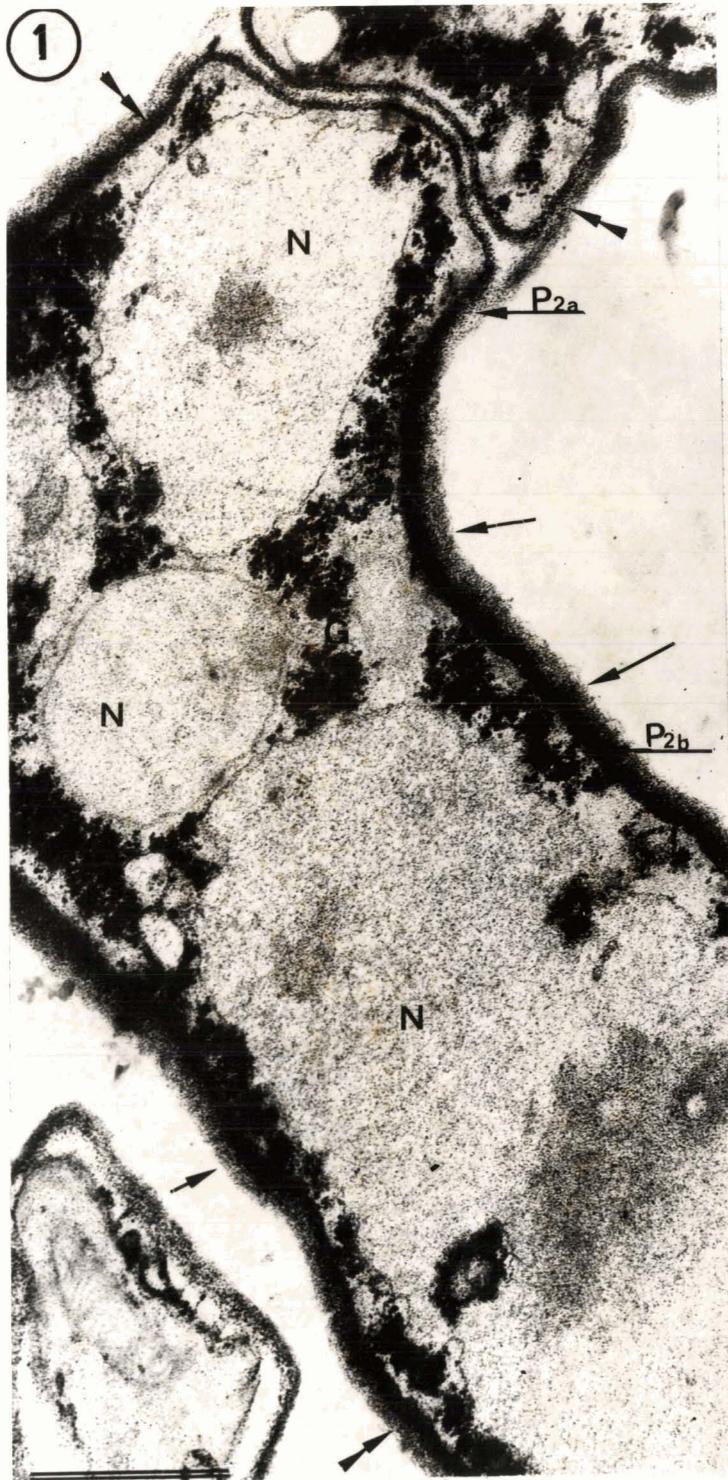


PLANCHE XIX

Paroi de la forme saprophyte de *Trichophyton mentagrophytes*.

Coupes après réaction de Thiery (24 h d'action du T.C.H.).

Figure 1.— Coupe au niveau d'un septum. La lame médullaire du septum, claire aux électrons, s'élargit pour former un ancrage triangulaire, en coupe, dans les parois latérales. Remarquer le corps de Woronin peu contrasté par rapport à l'aspect qu'il présente après coloration à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb; ce qui est en faveur de l'hypothèse selon laquelle les corps de Woronin seraient de nature protéique.

X 30.000

Figure 2.— Remarquer la lame moyenne du septum dont la densité aux électrons n'est assimilable à aucune des autres couches pariétales. Elle est donc très certainement formée de constituants différents de ceux de la paroi.

X 22.000

Figures 3, 4, 5.— Ces 3 micrographies concernent des cellules âgées au cytoplasme vacuolisé et pauvre en organites, contrairement aux micrographies précédentes. Dans tous les cas, P<sub>2</sub> présente une structure homogène, P<sub>2b</sub> n'étant plus identifiable. La perte de ce matériel polysaccharidique apparaît bien liée au vieillissement cellulaire.

Fig. 3 X 35.000

Fig. 4 X 37.000

Fig. 5 X 50.000



