

50376
1983
79

50376
1983
79

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

THESE

PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE TITRE DE
DOCTEUR DE 3^{EME} CYCLE EN BIOCHIMIE APPLIQUÉE

PAR

KOUEMENI ELISABETH-LYSETTE

ETUDE DES ANTIGENES CIRCULANTS, DES IMMUNS
COMPLEXES CIRCULANTS ET DE LA REPOSE I_GE
DANS L'ONCHOCERCOSE



SOUTENUE LE 13 JANVIER 1983
DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

PRÉSIDENT : M. J. MONTREUIL
RAPPORTEUR : M. A. CAPRON
EXAMINATEURS : M^{LLE} G. SPICK
M. J.P. DESSAINT
M. J. KRIMBEL

A mes parents,

Pour le sacrifice et l'immense effort consentis.

Que ce travail soit le témoignage de l'amour et du
dévouement que je vous porte.

En mémoire à mon Oncle SIEKAPEN JUUMO Pierre

A mes frères et soeurs,

A toute ma famille.

A mon Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Professeur Jean MONTREUIL

qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette Thèse.
Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma profonde
gratitude.

A mon Maître,

Monsieur le Professeur André CAPRON

Vous m'avez accueillie dans votre laboratoire et honorée de votre confiance.

Bénéficiant de votre haute compétence et de vos conseils avisés, j'ai fait mes premiers pas dans la recherche.

Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon plus grand respect.

Je remercie tout particulièrement :

- Monsieur HAQUE Azizul

Je ne saurais oublier l'aide si chaleureuse que vous m'avez apportée durant mon séjour dans le laboratoire. Soyez assuré de toute ma reconnaissance et de mon respectueux attachement.

- Madame CORNETTE Jocelyne

- Monsieur OUAISSI Ali

- Monsieur BOUT Daniel

- Mademoiselle COLSON Claudine

- Madame MASSART Marie-France

envers lesquels j'ai une vive reconnaissance pour leur collaboration très efficace et amicale.

A tous mes amis,

- DAKAM Marie-Clémentine
- Mr et Mme DJOUMESSI
- Mr et Mme TOUKAM et ses soeurs
- DIRAT Isabelle

Je vous dédie ce travail en témoignage de l'affection
que je vous porte.

PUBLICATIONS

1. A. HAQUE, A. ABDOU, L.E. KOUEMENI, F. BRENIERE & A. CAPRON.
Future development in immunodiagnosis of filarial infections with special emphasis on circulating antigens. W.H.O. Scientific Working Group on Progress in Immunology of Filariasis. Genève, 7-9 Novembre 1979, Working Paper, O.M.S. Genève, Suisse.
2. M.A. OUAISSI, L.E. KOUEMENI, A. HAQUE, P.R. RIDEL, P. SAINT-ANDRE & A. CAPRON.
Detection of circulating antigens in Onchocerciasis. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 1981, 30 (6), 1211-1218.
3. A. HAQUE, L.E. KOUEMENI, M.A. OUAISSI, I. DES MOUTIS & A. CAPRON.
Detection of circulating antigens in Onchocerciasis.: a new possibility of development of a specific diagnostic test. Presented at a Workshop on "Problems in Filariasis Research", organized by London School of Tropical Medicine, at St Albans (England), 16 Juin 1981.
4. A. HAQUE, I. DES MOUTIS, A. CAPRON, M.A. OUAISSI & L.E. KOUEMENI.
The application of monoclonal antibodies to studies of filariasis. To be published in Proceedings of the Symposium on "The properties of monoclonal antibodies and their application to the study of diseases", Held in Singapore, 19-23 Octobre 1981. Proceedings will be published in a book.
5. A. HAQUE, A. CAPRON, L.E. KOUEMENI, M.A. OUAISSI, J.P. LEJEUNE & B. BONNEL.
Immune unresponsiveness in filarial infection and its possible relation to filarial disease. Presented in the International Colloquium on the Pathogenesis of disease induced by parasite. Anvers, Belgium, 11-13 Décembre 1981. Proceedings will be published in a book.
6. L.E. KOUEMENI, A. HAQUE & A. CAPRON.
Detection of IgE antibodies in Onchocerciasis. Possibility of using allergens from Dipetalonema viteae extracts that cross-reacts with allergenic determinants in crude extracts of Onchocerca volvulus. Clin. Exp. Immunol., 1982, 50, 541-548.

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire
du Service d'IMMUNOLOGIE et de BIOLOGIE PARASITAIRE
de l'INSTITUT PASTEUR de LILLE
sous la Direction du Professeur A. CAPRON

PLAN GÉNÉRAL

INTRODUCTION

CHAPITRE I - DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES FILARIOSES HUMAINES

CHAPITRE II - LES ANTIGÈNES ET LES COMPLEXES IMMUNS CIRCULANTS

CHAPITRE III - IgE : DONNÉES GÉNÉRALES

CHAPITRE IV - MATÉRIELS ET MÉTHODES

CHAPITRE V - RÉSULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

- PROTOCOLE DES TECHNIQUES UTILISÉES

RÉFÉRENCES

TABLE DES MATIÈRES

RESUME

Cette étude a porté sur la détection des antigènes circulants, des complexes immuns et des anticorps de la classe IgE dans l'Onchocercose.

Il est probable que la détection des antigènes circulants spécifiques du parasite dans le sérum ou l'urine des patients onchocerquiens favoriserait le développement de l'immunodiagnostic de la maladie ou d'en discerner les formes cliniques au cours d'une infection naturelle. En utilisant les techniques de double diffusion et d'immunoélectrophorèse, les antigènes circulants d'Onchocerca volvulus (ACO) ont été détectés chez 31 % de sujets onchocerquiens. Par contre, en appliquant des techniques plus sensibles tels que le Radioimmunoprécipitation-PEG assay (RIPEGA) ou le Sandwich RadioImmunoAssay (SRIA), on observe que plus de 75 % de sérums des patients infectés contiennent des ACO. La spécificité parasitaire de ACO est démontrée directement par une réaction d'identité avec un composant de l'extrait total soluble de O. volvulus. Les ACO ne sont pas décelés quand on utilise les hyperimmunsérums préparés contre d'autres parasites, sauf l'hyperimmunsérum anti-O. volvulus. Néanmoins, ce dernier montre une réaction croisée entre ACO et certains antigènes circulants dans le cas d'autres filaires humaines (Wuchereria bancrofti, Loa loa, Brugia malayi) mais pas avec d'autres nématodes (Ascaris lumbricoides, Schistosoma mansoni, Fasciola hepatica). Cependant, l'analyse des divers sérums par la technique d'immunoélectrophorèse indique la présence d'un système précipitant majeur localisé dans la région cathodique et qui est spécifique de l'onchocercose. Ceci permet dans une future étape de produire un hyperimmunsérum monospécifique contre cet antigène circulant majeur, afin de pouvoir établir un test spécifique de l'Onchocercose.

Nous savons qu'au cours de l'Onchocercose, il y a une synthèse des anticorps spécifiques du parasite. La présence des antigènes circulants libres montre qu'ils peuvent être en excès ou sous une autre forme. Ceci nous a conduit à étudier la présence des immuns complexes dans l'Onchocercose et à analyser les anticorps formant les complexes et la nature parasitaire de l'antigène impliqué.

Les études préliminaires montrent que les IgG et les IgM forment avec ACO des immuns complexes circulants. Dans bien des infections parasitaires, les immuns complexes peuvent être associés à la pathologie infectieuse.

De plus, une synthèse accrue des IgE est fréquente dans les infections filariennes. Les analyses quantitatives et qualitatives de la réponse IgE chez les sujets infectés peuvent contribuer valablement à la détermination d'une immunité de protection ou à la compréhension de la pathologie onchocerquienne. Plus de 70 % de patients onchocerquiens ont un taux élevé d'IgE spécifiques de O. volvulus comparativement aux sujets infectés par d'autres filaires (Loa loa, Wuchereria bancrofti, Brugia malayi) ou par d'autres helminthes (S. mansoni, A. lumbricoides, F. hepatica) Les IgE spécifiques de O. volvulus sont plus élevés chez les patients qui ont la gale filarienne. Le taux d'IgE total est significativement plus élevé dans les sérums des différents groupes d'individus originaires des zones endémiques que chez les sujets sains européens. Si on remplace l'antigène O. volvulus par des extraits obtenus à partir d'autres helminthes, on n'observe pas de réactions croisées. Cependant, les tests d'inhibition et la radioimmunoélectrophorèse montrent que les anticorps IgE présents dans les sérums de patients onchocerquiens reconnaissent les allergènes contenus dans les extraits totaux solubles des vers adultes de O. volvulus et de D. viteae. Cette dernière observation nous semble capitale, en effet l'isolement et la purification des fractions allergéniques de D. viteae

et leur utilisation dans la détection des IgE dans les filarioses humaines de façon générale et l'onchocercose en particulier pourrait constituer une voie d'approche pour la mise au point d'un test immunodiagnostic différentiel.

INTRODUCTION

Les filarioses sont des maladies très répandues dans les régions tropicales. On estime à 300 millions le nombre de personnes atteintes. Les principales espèces filariennes rencontrées sont :

. Wuchereria bancrofti et Brugia malayi en Asie et dans les îles du Pacifique

. W. bancrofti et Onchocerca volvulus en Amérique Latine

. W. bancrofti , O. volvulus et Loa loa en Afrique. Les espèces filariennes y sont plus nombreuses et la morbidité créée par ces affections est plus importante.

De toutes ces filaires, O. volvulus est la plus redoutable par la cécité qu'elle entraîne souvent et par l'éléphantiasis, facteurs de gravité qui handicapent l'homme et, par conséquent, paralysent l'économie de certaines régions rurales.

Les filarioses figurent à côté des autres maladies tropicales considérées comme fléau de l'humanité (paludisme, Trypanosomiasés, Schistosomiasés, leishmaniosés, lèpre). Elle ne mettent que rarement la vie du malade en danger. En cela, les filarioses se distinguent d'autres affections tropicales comme le paludisme

ou la maladie du sommeil qui ont un taux de mortalité élevé.

En raison de la période d'incubation qui est longue et de la fréquence importante des porteurs de parasites non malades, appelés "porteurs sains", le problème du dépistage d'une affection précoce et celui du traitement se posent.

Les méthodes courantes de diagnostic, faites de la recherche des parasites en microscopie directe et du test de MAZZOTTI, sont tardives et peu fiables.

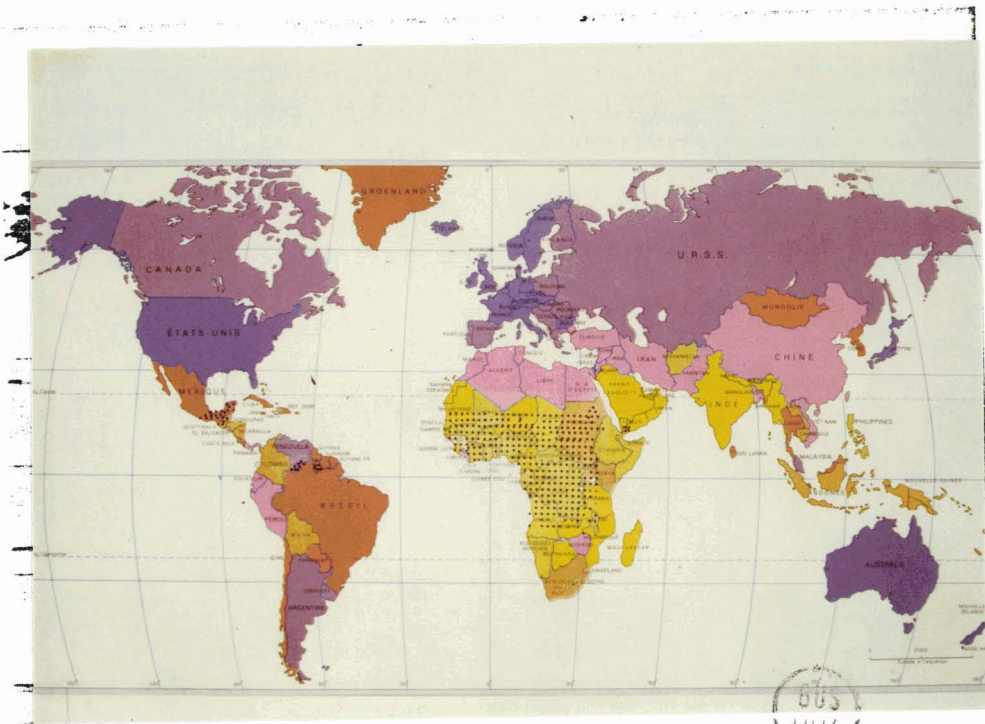
L'appoint de l'immunologie, par les méthodes indirectes de "diagnostic" par mise en évidence des anticorps spécifiques dans les sérums des patients filariens a été un espoir. Mais avec la recherche de ces anticorps spécifiques, se pose le problème de la spécificité des tests, étant donné qu'il existe une parenté antigénique d'une part entre les filaires et d'autre part entre les filaires et d'autres nématodes.

De ce fait, il s'avère nécessaire de rendre les tests plus spécifiques non plus par la recherche des anticorps mais par la mise en évidence des antigènes circulants dans les sérums ou dans les urines des patients. Les antigènes circulants sont définies comme des substances solubles libérées par les parasites dans

la circulation sanguine. En plus, leur présence pourrait constituer un marqueur de l'infection permettant même de déceler l'affection pendant la période prépatente. Jusqu'alors, cette présence d'antigènes circulants n'a jamais été démontrée dans les filarioses.

Nous avons mis en évidence des antigènes circulants spécifiques d' O. volvulus dans l'Onchocercose. Ces antigènes induisent la synthèse des anticorps avec lesquels ils forment des complexes, et parmi ces anticorps les IgE qui, à notre avis, participeraient aux manifestations cliniques de type allergiques observées dans l'Onchocercose.

Avant de procéder à l'examen de nos résultats, nous ferons un bref rappel des données récentes concernant les filarioses humaines, les antigènes circulants, les immuns complexes circulants et les immunoglobulines E.



zones onchocerquiennes



Simulie

CHAPITRE I

DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES FILARIOSES HUMAINES

A - LES FILARIOSES HUMAINES

1) ONCHOCERCOSE

a) Biologie

L'Onchocercose humaine est endémique en Afrique Occidentale et Centrale, en Amérique Centrale et au Yémen. On compte actuellement environ 40 millions

d'individus atteints d'onchocercose clinique (OMS, 1976) dont environ 25 millions sont aveugles en zones tropicales. Cette affection à symptômes dermique et oculaire a été décrite pour la première fois en 1875 par O'NEIL qui reconnut la nature filarienne des parasites trouvés dans les lésions de "Craw-Craw" (gale) chez les africains originaires de la Côte-d'Ivoire.

Le parasite O. volvulus est transmis à l'homme par une mouche noire hématophage (simulie) dont l'habitat est localisé le long des cours d'eau rapides, d'où le nom de "cécité des rivières" donné à l'Onchocercose. Alors que O. volvulus est décrite comme une espèce unique, les espèces de simulie varient considérablement selon les régions (OMS, 1976).

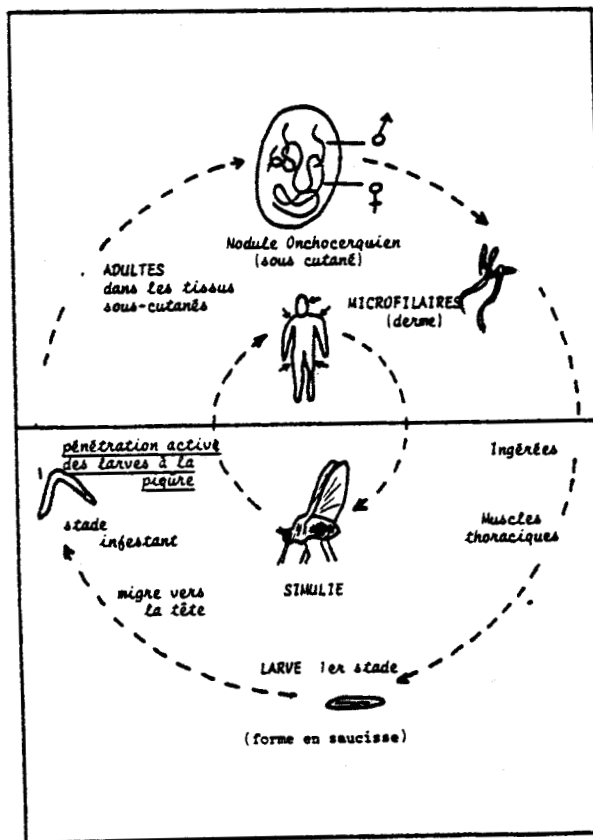
En Afrique, l'espèce de simulie (*Simulium damnosum*) est le vecteur le plus fréquemment rencontré. Une autre espèce (*S. naevi*) vit en Afrique de l'Est et Centrale (NELSON, 1970).

Les foyers de l'Onchocercose sont moins répandus en Amérique Centrale et du Sud qu'en Afrique. L'espèce simulie vectrice est S. ochraceum (De LEON et DUKE, 1966).

Le cycle évolutif

La biologie de O. volvulus a fait l'objet de

nombreuses études (NELSON, 1970 ; BLICK, 1974 ; MACKENZIE et NGU, 1979), mais plusieurs aspects du cycle du nématode sont encore mal connus : par exemple, la migration de la larve infestante (L₄) et celle du parasite jeune dans l'organisme de l'homme, de même que le mode d'invasion de l'oeil par la microfilaire. Le temps qui sépare deux stades larvaires consécutifs est aussi mal connu.



Cycle d'ONCHOCERCA VOLVULUS

b) Manifestation cliniques

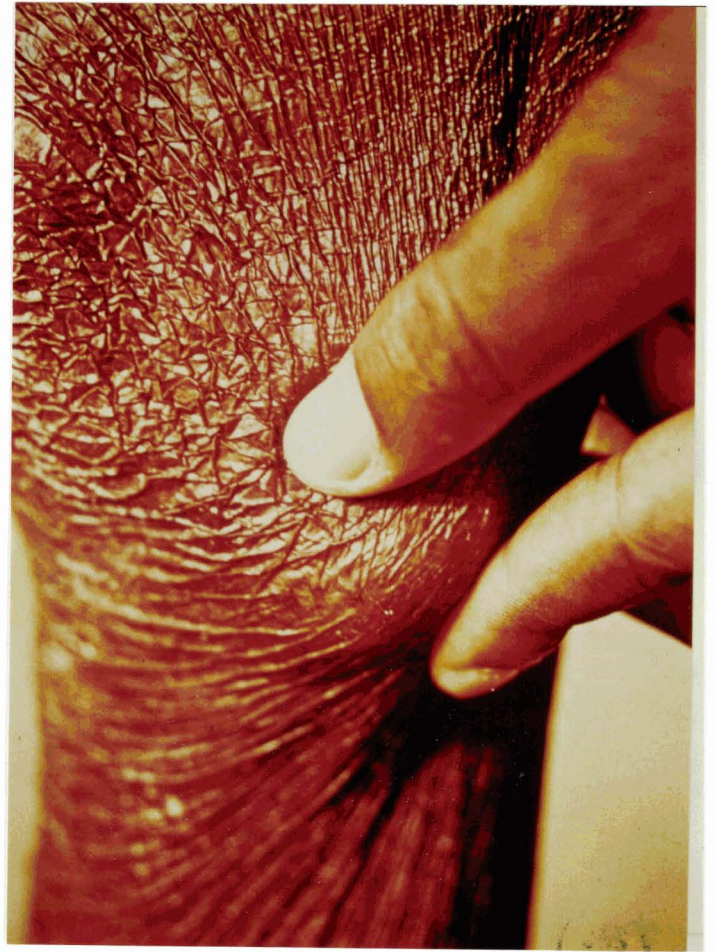
Depuis 20 ans, les études cliniques ont été entreprises sur l'onchocercose africaine, particulièrement au Cameroun par DUKE et al. , ensuite par ANDERSON et FUGLSANG, en Amérique Centrale, notons les travaux de MARTINEZ-BAEZ et al. .

. Manifestations dermatologiques :

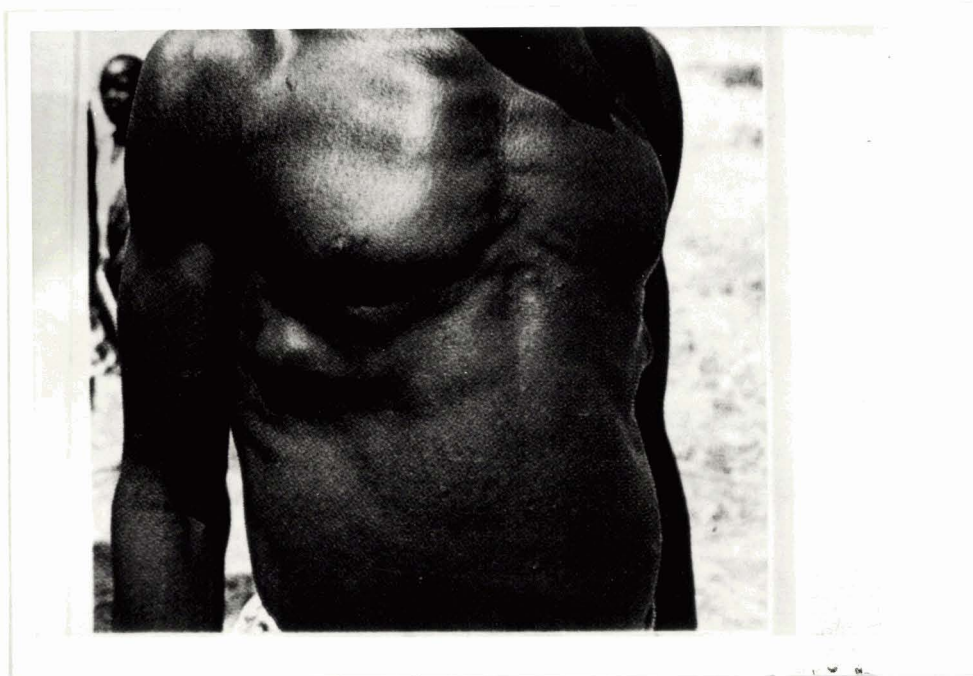
Contrairement aux infections à W. bancrofti et B. malayi où la pathologie est surtout causée par les stades adultes dans les lymphatiques, les principales lésions dans les infections à O. volvulus sont dues aux microfilaires mortes ou vivantes. Souvent, la première manifestation est due à la présence des microfilaires dans la peau avec des lésions dermiques telles que les éruptions prurigineuses au niveau des jambes et des bras, l'oedème avec "peau d'orange" commun aux premiers stades (NELSON, 1970 ; BLICK, 1974 ; ANDERSON et al. , 1974).



dépimentation de la peau



nodule du genou
peau de lézard



nodule costal

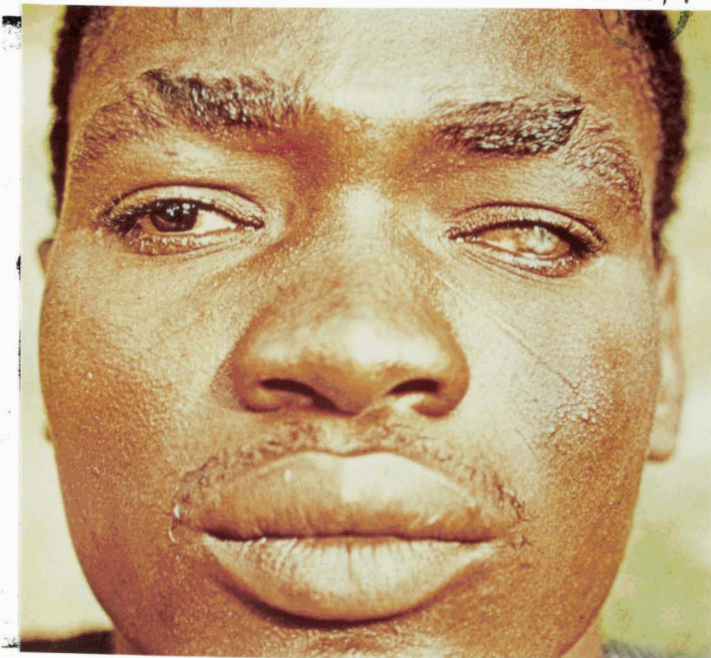
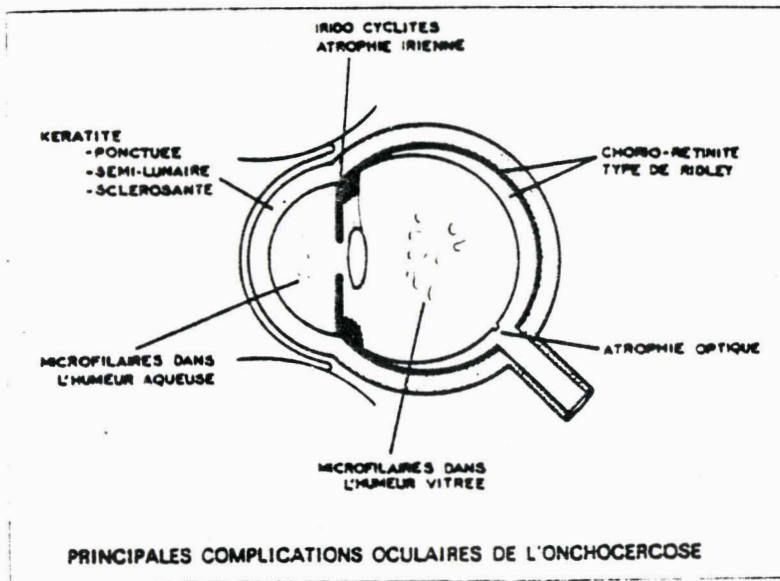


Dans l'évolution de la maladie, peuvent apparaître une modification de la pigmentation, une hyperkératite avec lichénification donnant un aspect de "peau de lézard" (CONNOR et al. , 1970). Ces aspects correspondent à la forme généralisée de la maladie décrite par BARTLETT et al. (1978) et MACKENZIE et al. (1981) et les patients ont la particularité d'avoir peu de microfilaires dans la peau ; les nodules sous-cutanés sont relativement rares.

L'Onchocercose se caractérise aussi par l'apparition fréquente de nodules sous-cutanés sur les plans osseux, notamment dans la région de la crête iliaque, de l'omoplate, du genou, des côtes (NELSON, 1970). Les nodules proviennent des réactions tissulaires autour des vers adultes, mais le mécanisme de formation est encore inconnu. Ces nodules peuvent se former en profondeur et ne sont pas palpables.

. Lésions ophtalmiques

Le mode de pénétration des microfilaires dans l'oeil est peu connu. Ces parasites peuvent avoir accès aux tissus oculaires via les tissus de la conjonctive, via le système vasculaire, ou peut-être via le nerf optique dans le cas de l'atteinte du segment postérieur. Souvent, les microfilaires atteignent la chambre antérieure. Les formes pathologiques oculaires peuvent être



kératite sclérosante
(oeil gauche)



file d'onchocercosis
quiens aveugles

classées en deux groupes : réactions aiguës et réactions chroniques.

La kératite sclérosante, cause fréquente de cécité en savane africaine, s'installe par un long processus. La cornée contient des microfilaires dégénérées auxquelles sont fixées des cellules inflammatoires (BLUCK, 1971). De plus, RODGER (1973) a émis l'hypothèse que la cécité peut aussi provenir d'une réaction inflammatoire du nerf optique.

. Systèmes lymphatiques

Bien que l'Onchocercose provoque des manifestations pathologiques dans les tissus dermiques et oculaires, elle peut toutefois affecter le système lymphatique et entraîner dans le cas extrême l'éléphantiasis (CONNOR et al. , 1970 ; GIBSON et CONNOR, 1978).

. Formes cliniques

L'Onchocercose présente des formes cliniques variables d'une région à l'autre. Les différences entre les formes de savane et celles de la région forestière de l'Afrique ont été décrites par ANDERSON et al. (1974).

En savane, les populations ont peu de nodules palpables et une microfilarodermie élevée avec une haute incidence d'uvéïté antérieure et de kératite sclérosante, par opposition aux populations infectées de la

région forestière qui ont plus de nodules avec un taux modéré de microfilarodermie et relativement peu de cécité dues aux lésions de la chambre antérieure de l'oeil. L'impact de l'Onchocercose sur le système lymphatique est plus marqué en zone forestière qu'en savane (ANDERSON et al. , 1974).

Les facteurs responsables de différences géographiques de cette maladie sont probablement nombreux mais l'hypothèse selon laquelle il existe plusieurs souches de parasites semble vérifiée (DUKE et ANDERSON, 1972 ; DUKE et GARNER, 1975). La souche de la savane soudanaise par exemple ne survivra pas chez le vecteur de la zone pluvieuse forestière et vice-versa (DUKE, 1967) ; O. volvulus africain ne survivra pas non plus dans l'espèce de simule de l'Amérique Centrale (DUKE et al. , 1967). BRYCESON et al. (1976) ont démontré des différences antigéniques entre les souches de O. volvulus de la savane et de la région forestière.

c) Réponse immune dans l'Onchocercose

L'absence de modèle expérimental de l'Onchocercose humaine pose des problèmes pour l'investigation immunologique de cette infection. La difficulté d'obtenir le matériel des zones endémiques a conduit à utiliser les extraits d'antigènes bruts de O. volvulus ou des autres filaires. La caractérisation des antigènes

O. volvulus est de première importance dans les études immunologiques en relation avec les variations cliniques. Les études sont rendues encore plus complexes en raison du fait que les malades sont fréquemment polyparasités et souffrent souvent d'autres infections virales, bactériennes et helminthiques. De plus, on n'oubliera pas l'impact de la malnutrition sur la réponse immunitaire.

Les études de CAPUCCINELLI et al. (1971) sur des malades du Libéria ont montré une augmentation des IgD et pas des autres classes d'immunoglobulines. Cela contredit les études de BUCK et al. (1973) qui observent que l'Onchocercose sévère est associée à un taux d'IgG et d'IgA dans le sérum mais des concentrations relativement faibles des IgD. La population étudiée par ces mêmes auteurs est sous-nutrie et certains paramètres du système immunitaire sont déprimés. Par ailleurs NGU et BLACKETT (1976) trouvent des taux d'IgG, d'IgM et d'Immunoconglutinines plus élevés chez les Onchocerquiens que chez les sujets sains. Un taux élevé d'IgE a été décrit chez 86 % de Nigériens onchocerquiens (SOMORIN et al. , 1977), tandis que BUCK et al. (1973) ne notent aucune élévation d'IgE dans leurs observations.

Par ailleurs, le parasite peut vivre long-

temps en harmonie relative avec l'hôte et le taux des anticorps atteint un plateau. Cependant, il arrive des périodes de la maladie où une réaction intense apparaît contre les microfilaires et à ce moment la synthèse des anticorps croît.

Aucune pathologie n'est attribuée à la présence de la larve infestante ; mais on peut penser qu'une infection répétée par cette forme du parasite relativement immunogène puisse jouer un rôle sur le système immunitaire de l'individu.

Le développement d'une capsule fibreuse autour du parasite adulte se fait probablement sous l'influence du système immunitaire, peut-être de la même façon que les granulomes dans la schistosomiase (WARREN et al. , 1977).

Les études sur l'immunité à médiation cellulaire dans l'Onchocercose est encore à ses débuts. Cependant, on a observé une réaction d'hypersensibilité retardée chez les malades africains qui présentent une forme localisée de l'Onchocercose (BARTLETT et al. , 1978 ; NGU, 1978). Par contre, les patients porteurs de la forme généralisée semblent avoir un mécanisme de suppression de cette même réaction. La réaction d'hypersensibilité serait le fait d'une faible infection, le

test cutané devenant négatif quand la charge microfilariémique croît dans la peau (GOMEZ-PRIEGO et al. ,1980).

Par ailleurs, on décrit qu'une kératite ponctuée consisterait en des réactions inflammatoires localisées autour des microfilaires dans la cornée. De façon similaire, les microabcès de la peau seraient des réactions autour des parasites vivant dans la peau (CONNOR et al. , 1970). De plus, quand la majorité des microfilaires sont tuées au même moment, comme après un traitement à la Notézine, une grande quantité du matériel parasitaire surcharge l'organisme et les réactions cliniques aiguës associées au traitement médicamenteux apparaissent.

Une question importante se pose dans l'Onchocercose : existe-t-il une réelle immunité à la réinfection ?

On a remarqué, dans une région du Cameroun où l'Onchocercose est très endémique, que les enfants âgés de moins de 10 ans hébergent peu de microfilaires, le nombre augmente chez les sujets âgés de 11 à 15 ans et atteint le maximum entre 16 et 20 ans, puis se stabilise (DUKE et MOORE, 1968) ; ce plateau ne signifie pas nécessairement le développement d'une résistance à l'infection. En effet, DUKE (1968) a étudié l'immunité à la réinfection en tenant compte de l'âge et en traitant

les sujets adultes pour éliminer les vers adultes d' O. volvulus . Il étudie la réapparition de l'infection en comptant les microfilaires dans la peau, il constate que le taux de l'infection atteint celui d'avant 4 ans après la prise de la Notézine. Ceci suggère une faible immunité à la réinfection, au moins en absence d'une charge permanente de vers adultes. Tenant compte de ces observations, on peut déduire qu'il n'existe pas d'immunité de protection contre O. volvulus dans les zones endémiques bien qu'il y ait une forte réponse immune de l'hôte induite par le parasite.

2 - FILARIOSES LYMPHATIQUES

Les filarioses lymphatiques sont les plus répandues. Elles sont causées par deux espèces différentes de filaires :

. W. bancrofti rencontré en Asie, en Océanie, en Afrique et en Amérique du Sud, existe sous deux formes selon que la présence des microfilaires dans le sang périphérique est strictement nocturne ou à la fois nocturne et diurne (forme subpériodique). Les insectes vecteurs sont des moustiques nocturnes du genre Anophèles et des moustiques du genre Aedès qui piquent le jour ;

. B. malayi moins répandue et cantonnée dans certains pays d'Asie est transmis à l'homme par un mousti-

que du genre Mansonia .

Les troubles pathologiques dans les filarioses lymphatiques sont en rapport avec la présence des vers adultes dans les organes lymphatiques. L'obstruction des ganglions et des vaisseaux lymphatiques provoquent l'apparition des varices. Le stade ultime et le plus spectaculaire de la maladie est l'éléphantiasis localisé souvent aux membres inférieurs ou aux organes génitaux surtout le scrotum.

3 - LOASE

La troisième filariose, par ordre d'importance, est la loase. Elle est strictement africaine et se localise dans l'aire de la grande forêt d'Afrique Centrale.

L'agent infectieux, le *Loa loa* est transmis à l'homme par un tabanidé du genre Chrysops . Le jour, les microfilaires sont présentes dans le sang périphérique et la nuit dans le sang pulmonaire. La filaire adulte vit sous la peau, s'y déplace constamment en occasionnant des oedèmes surtout au niveau des articulations des membres supérieurs. Ces oedèmes sont appelés "oedèmes de Cabbar". La filaire adulte peut envahir les tissus superficiels de l'oeil, elle est alors visible. Dans certains cas, la loase peut provoquer des complications au niveau des reins, du coeur et du cerveau et entraîner une encéphalite après une prise de Notézine.

B - DIAGNOSTIC DES FILARIOSES

Le diagnostic des filarioses est basé sur des examens biologiques qui consistent en la recherche des microfilaires dans le sang, les sucs dermiques, le liquide lymphatique, et en la détection des anticorps circulants dans les sérums des malades.

1 - EXAMENS PARASITOLOGIQUES

La mise en évidence du parasite apporte le diagnostic de certitude. Un des progrès réalisés dans le diagnostic des filarioses fut l'introduction en pratique courante des méthodes quantitatives pour apprécier la charge parasitaire (DUKE, 1962). Ce paramètre est en corrélation, dans certaines limites, avec l'existence des complications oculaires ou cutanées et s'impose à la fois comme index de gravité et comme facteur de risque.

a) Méthodes directes de mise en évidence du parasite

a-1) Recherche des nodules :

La recherche des onchocercos dans lesquels sont pelotonnés un ou plusieurs couples d' O. volvulus est la plus ancienne des méthodes de diagnostic et est

encore une pratique de routine courante au cours de la plupart des enquêtes. Cette méthode est peu fiable. La palpation d'un kyste ne signifie pas que celui-ci soit forcément un signe d'Onchocercose active. Certains vers sont morts, dégénérés ou calcifiés et quelques kystes sont vides de parasites, bien que la trace de leur présence y reste visible (SCHULZ, KEY H., 1977). A moins de la dissection, la seule présence des kystes ne peut constituer un moyen d'appréciation.

De plus, si la majorité des kystes siègent en regard des plans osseux au niveau sous-cutané, d'autres sont profonds et non palpables. L'absence du kyste est donc insuffisante pour infirmer le diagnostic de l'Onchocercose.

a-2) Recherche des microfilaires

Des microfilaires ont été trouvées dans la peau, le sang, la lymphe et parfois les larmes.

Dans l'urine, les microfilaires ont été observées par MAZZOTTI (1959) mais ce n'est que récemment que cette observation a acquis une valeur épidémiologique (BUCK et al. , 1969 ; PICK et ROUX, 1973 ; ANDERSON, 1975). Toutefois, la présence des microfilaires dans les urines a toujours été associée à un fort degré de parasitisme cutané et n'a jamais été observée isolément.

Au vu de lésions oculaires observées chez des

malades vivant en zones onchocerquiennes, la détection des microfilaires dans la chambre antérieure de l'oeil est également un élément très important au cours de l'examen d'un sujet susceptible d'être atteint d'onchocercose.

La couche superficielle du derme constitue le lieu d'élection des microfilaires d' O. volvulus (KERSHAW et al. , DUKE, 1954) et la recherche des microfilaires dermiques par biopsie cutanée exsanguée est la méthode de diagnostic de référence pour le diagnostic de l'onchocercose.

La biopsie cutanée exsanguée consiste en une excision d'un lambeau de peau comprenant les couches superficielles du derme que l'on place dans de l'eau physiologique ou distillée. Les microfilaires émises sont observées à l'état frais au microscope ou à la loupe binoculaire (DUKE, 1962 ; LAGRAULET et al. , 1971; PICQ et al. , 1971).

b - Méthodes indirectes de la mise en évidence du parasite

L'administration de 20 à 30 mg de Notézine à un onchocerquien provoque dans un délai de 15 mn à 24 h une réaction urticarienne due au phénomène de migration et de destruction des microfilaires. MAZZOTTI a proposé cette méthode qui constitue un moyen de diagnostic dans

les infections légères surtout si le parasite n'a pu être facilement mis en évidence

(LAGRAULET, 1971 ; BOURREG et al. , 1976). Ce moyen d'investigation a même été employé lors d'enquêtes de masse. Mais l'absence d'indication précise sur l'intensité d'une infection limite l'application de la méthode, erreurs par défaut dues au fait qu'un certain nombre d'onchocerquiens ne réagissent pas à la Notézine, erreurs par excès dues au fait que certains sujets sans microfilaires y réagissent (DUKE, 1975).

2) DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

Dans les filarioses, on observe les situations intermédiaires entre le porteur sain, le malade évolutif avec ou sans microfilaire décelable et une variété de signes cliniques, et le malade stabilisé avec lésions irréversibles (éléphantiasis, peau de lézard, cécité) et absence complète du parasite. Ces observations nous permettent de noter que la mesure de la prévalence, basée uniquement sur la microfilarémie, et la manière dont un sujet peut extérioriser une filariose ne reflètent pas fidèlement le degré d'imprégnation de la population par une infection filarienne dans les foyers endémiques. Les infections légères sont méconnues. C'est pourquoi l'immuno-diagnostic complète utilement les examens parasitologiques et présente un grand intérêt dans les

études épidémiologiques, ainsi que pour le diagnostic individuel. Une méthode immunologique capable de révéler une infection légère est extrêmement précieuse et permet d'adopter les mesures appropriées aussi rapidement que possible.

Diverses études ont été entreprises en vue d'étendre à l'onchocercose les techniques sérologiques successivement adaptées aux problèmes parasitaires. L'onchocercose ne pouvait échapper à la condition fondamentale de pouvoir disposer d'un antigène sélectif qui détermine à la fois les possibilités et les limites. Les antigènes dits "homologues" s'obtiennent difficilement et de plus sont souvent une grossière soupe constituée à partir d'éléments somatiques des vers et des contaminants qui sont des protéines humaines prones venant de l'enveloppe des nodules. Il n'est dès lors surprenant de voir faire appel à des antigènes hétérologues, tels Dirofilaria immitis , D. viteae , Seratia equina , O. gutturosa (BIGUET et al. , 1965 ; 1965 ; CAPRON et al. , 1968), ou des antigènes de nématodes, nématodes, tels A. suum (GENTILINI et al. , 1972).

En gros, toutes les techniques courantes ont été essayées : test d'intradermoréaction, déviation du décomplément (R.F.C.), hémagglutination indirecte (Hmg), double diffusion (DD), immunoélectrophorèse

(IEP), test immunoenzymatique (ELISA), toutes basées sur un antigène soluble et l'immunofluorescence indirecte (IF) à l'aide d'un antigène figuré.

a) Le test d'intradermoréaction permet d'examiner l'hypersensibilité du sujet, c'est-à-dire la réaction à un antigène auquel il a déjà été sensibilisé (KAGAN, 1963 ; GIDEL et al. , 1963).

Les tests d'intradermoréaction appliqués à l'Onchocercose ont permis à BARTLETT et al. (1978) de discerner deux types de réponses selon la forme de l'infection que présentent les malades. Les sujets avec une forme généralisée d'onchocercose produisent des réactions d'hypersensibilité immédiate tandis que les patients avec une forme localisée réagissent plus tardivement. L'antigène utilisé dans les deux cas est un extrait soluble de vers adultes d' O. volvulus . Par la suite, EVERETT L. et al. (1980) reprennent ces travaux en injectant aux malades non plus l'antigène de vers adultes mais les produits d'excrétion et sécrétion (ES) des microfilaires d' O. volvulus en culture in vitro . Ces antigènes se sont avérés hautement sensibles dans la détection d'une onchocercose active chez des sujets malades. Par contre, les mêmes auteurs observent un taux faible de réactions croisées avec la loase.

Les tests effectués avec des extraits puri-

fiés de D. immitis (SAWADA et al. , 1969) n'ont pas permis de discerner une onchocercose d'une Wuchereriose (GIDEL et al. , 1969). Le taux de fausses réactions positives trouvées est important dans les zones endémiques.

Etant donné que les antigènes O. volvulus s'obtiennent difficilement et que la sensibilité est faible avec l'antigène hétérologue, le test d'intradermoréaction ne peut pas être une technique d'utilité pratique dans les enquêtes épidémiologiques de l'onchocercose.

b) La réaction de fixation du Complément a été fréquemment employée dans le diagnostic des filarioses (KAGAN, 1963).

Cette technique à l'aide d'antigènes homologues et hétérologues donne des résultats positifs variant entre 60 et 86 % (HUSSON, SCHWEIDER, 1958 ; GIDEL et al. , 1969 ; LE BRAS, 1977 ; ROUSSEAU-BAELDE et JANSSENS, 1961). Les personnes qui n'ont jamais séjourné sous les tropiques ne donnent guère de réactions positives ; par contre, des contrôles locaux peuvent entraîner jusqu'à 38 % de réactions faussement positives. En raison de ces observations, la réaction de fixation du complément n'est pas considérée comme un test d'utilité générale et pratique dans les zones tropicales.

c) La réaction d'hémagglutination appliquée au diagnostic de l'Onchocercose par KAGAN et al. (1963) et ROSE et al. (1966) ne peut pas être utilisée dans la pratique en raison des réactions croisées entre les différentes espèces filariennes et entre les filaires et les autres nématodes.

d) L'intérêt en matière de sérodiagnostic des filarioses et surtout de l'Onchocercose s'est concentré pendant longtemps sur l'immunofluorescence (IF). C'est en 1962 que LUCASSE, pour la première fois, a utilisé cette technique dans le diagnostic de l'onchocercose. Reprise par PINON et GENTILINI (1972), TEN EYCK (1973) et plus particulièrement par AMBROISE-THOMAS (1968, 1969, 1974), elle prend un essor considérable.

Les antigènes utilisés sont des coupes de microfilaires d' O. volvulus , des coupes de vers adultes homologues (O. volvulus) ou hétérologues (D. viteae) d'ailleurs de structure antigénique fort similaire. L'approvisionnement de D. viteae est beaucoup plus aisé puisqu'il se maintient facilement au laboratoire et les vers de O. volvulus peuvent être contaminés par les protéines humaines provenant de l'enveloppe des nodules.

L'intérêt porté sur l'immunofluorescence en diagnostic s'explique par la sensibilité satisfaisante,

la positivité est de l'ordre de 85 à 90 %. Chez les sujets sans microfilariémie détectable, on détecte plus d'anticorps que chez d'autres sujets (PONNUDURI et al. 1974 ; WONG et SUTER, 1979 ; Mc GREVY et al. , 1974), mais cette différence de positivité apparaît moins marquée quand on utilise l'immunoélectrophorèse (AMBROISE-THOMAS, 1974). Cependant, l'immunofluorescence ne permet pas de distinguer spécifiquement les différentes filarioses quand on utilise l'antigène de groupe D. viteae .

e) Double-diffusion et Immunoélectrophorèse

C'est à l'école Lilloise que revient le mérite d'avoir utilisé les techniques de diffusion en gel pour le diagnostic des filarioses (BIGUET et al. , 1962 ; BIGUET et al. , 1966).

e-1 - La double-diffusion d'Ouchterlony est généralement utilisée comme test préliminaire à l'Immunoélectrophorèse (IEP). Elle permet dans un premier temps de distinguer les filarioses des autres affections mais pas de spécifier le type de filariose. Comparativement à l'IEP, elle est plus rapide et plus simple. Etant donné la difficulté d'obtenir les antigènes homologues de O. volvulus , les antigènes hétérologues des vers adultes de D. viteae et D. immitis sont couramment em-

ployés (BIGUET et al. , 1962). La double diffusion effectuée par NIEL et al. (1972) repose sur un antigène extrait d' A. suum .

e.2 - L'Immunoélectrophorèse est une réaction fort fidèle. BIGUET et al. (1962 à 1964), CAPRON et al. (1968) et d'HAUSSY et al. (1972) obtiennent 80 à 85 % de résultats concordants. Jusqu'alors, elle demeure le seul test spécifique de la loase, de la wuchereriose et de l'onchocercose, à cause des arcs de précipitation caractéristiques de chaque filaire que l'on obtient non seulement avec les antigènes homologues mais aussi avec les antigènes hétérologues extraits de D. viteae (CAPRON et al. , 1968) ou de A. suum (GENTILINI et al. , 1972a). Mais cette méthode présente le double inconvénient de nécessiter des quantités assez conséquentes de sérums, d'antigènes et d'être lente, ce qui limite sa pratique dans les enquêtes ou études séroépidémiologiques.

f) . Réaction enzymatique : ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay

L'intérêt en matière de sérodiagnostic de l'onchocercose s'est concentré sur l'ELISA, test qui permet de mesurer de manière quantitative les anticorps par le biais d'une révélation d'activité enzymatique. Il en est résulté une prolifération de macro et micro-

techniques visant à améliorer la sensibilité, la spécificité, la maniabilité, la rapidité et l'utilisation directe sur le terrain. BARTLETT et BIDWELL (1975) obtiennent des résultats peu satisfaisants. Toutefois, AMBROISE-THOMAS et al. (1980) ont mis au point une microméthode qui, moyennant la préparation d'un antigène homologue bien purifié et débarrassé des protéines humaines mélangées inévitablement au matériel du départ ouvre des perspectives intéressantes. Les pourcentages de positivité obtenus en micro-ELISA sont sensiblement identiques à ceux obtenus sur les mêmes sérums par IF. Mais la proportion de résultats dépassant le seuil de spécificité et dès lors de caractère plus fiable, est nettement plus élevée pour le micro-ELISA. Néanmoins, l'ELISA manque de spécificité.

CHAPITRE II - LES ANTIGENES (Ag) ET LES COMPLEXES
IMMUNS CIRCULANTS (CIC).

A - LES ANTIGENES CIRCULANTS

Les parasites sont capables de libérer dans la circulation sanguine des substances immunogéniques appelées antigènes circulants. Ces antigènes circulants ont été décrits aussi bien dans les infections à protozoaires que dans les infections à métazoaires.

1 - Antigènes circulants dans les infections à protozoaires

L'étude des antigènes circulants dans les infections à protozoaires ont permis de mettre en évidence :

a) - dans le Paludisme, des antigènes circulants ont été détectés surtout au stade de schizogonie (WILSON et BARTOLOMEW, 1975 ; WILSON et al. , 1975 ; Mc COLM et al. , 1977).

Ces antigènes sont classés selon leur thermostabilité et leur spécificité sérologique. C'est ainsi qu'on aura des antigènes labiles à 56°C (L-antigènes), des antigènes stables à 56°C (R-antigènes) et des antigènes stables à 100°C (S-antigènes). Les S antigènes sont les plus fréquemment décelés chez les enfants plasmodiens.

b) - GODGER (1973, 1976), en étudiant la babésiose, a décrit deux antigènes circulants, ces antigènes seraient une partie du parasite complexé au fibrinogène, ou lié à la surface de l'érythrocyte.

c) - dans la Leishmaniose, les formes promastigotes de leishmanie libre dans la circulation une substance appelée "facteur excrété" (EF) (EL-ON et al. , 1974). EF est aussi présent dans les tissus infectés par les amastigotes.

2 - Antigènes circulants dans les helminthiases

Au cours de cette dernière décennie de nombreux travaux ont porté sur l'étude des antigènes spécifiques parasitaires décelés dans le sérum, les urines et le lait des individus infectés par différentes espèces de schistosome.

a) - C'est ainsi que GOLD et al. (1969), d'une part, décrivent un antigène schistosomien de faible poids moléculaire dans les sérums et urines de hamsters infectés par S. mansoni .

D'autre part, NASH et al. (1973) et DEELDER et al. (1976) mettent en évidence un autre antigène de haut poids moléculaire (200.000 daltons). En outre OKABE et TANAKA (1961) décèlent dans les urines de patients infectés par S. japonicum un autre antigène circulant différent de celui qu'ont décrit GOLD et al. . De plus, DEELDER et al. (1976) démontrent la présence de deux autres antigènes circulants chez le hamster infecté par S. mansoni dont l'un est anodique et l'autre

cathodique, et de poids moléculaire élevé.

Nous n'oublions pas de citer l'antigène M décrit par CARLIER et al. (1980) dans le lait et les urines de femmes infectées par S. mansoni. Cependant, il n'est pas encore décelé dans le sérum. Cet antigène thermostable et dialysable semble correspondre à la fraction cathodique de faible poids moléculaire décrit par DEELDER et al.

b) Notons aussi la présence des antigènes circulants dans les infections à Hoemonchus et à Trichinella spiralis.

Mais jusqu'alors, la présence des antigènes circulants n'a jamais été démontrée dans les filarioses en général et dans l'Onchocercose en particulier.

3 - Nature des antigènes circulants

Les antigènes circulants sont libérés à différents stades de développement du parasite. Ces substances de nature différente peuvent être des produits de sécrétion (enzymes et produits de métabolisme), des résidus somatiques provenant de la variation de la surface du parasite, des substances provenant de la mort du parasite, ou même des antigènes d'hôte.

a) Dans la schistosomiase, on a observé que les cercaires progressent dans l'organisme en sécrétant les

enzymes qui perforent les tissus (MANDLOWITZ et al. , 1966 ; GAZZINELLI, 1966, 1972 ; STIREWALT, 1973). BOUT et al. (1977) ont mis en évidence la malicodeshydrogenase (MDH) du schistosome (S. mansoni), localisée au niveau de l'assise cellulaire, superficielle du coecum. Les enzymes libérées peuvent être des excès d'enzymes utilisées dans le catabolisme des substances nutritives du parasite.

b) Les substances métaboliques, libérées par les parasites, sont des excréments et sécrétats de l'appareil digestif, du tégument, du système excréteur et de l'appareil génital. Elles peuvent aussi être des structures mal connues. D'autres substances issues du catabolisme parasitaire également rejetées par le parasite peuvent être des excréments originaires de l'hôte. Ainsi certaines structures ou parties de structures sériques ou érythrocytaires (stroma, et globine) dégradées sortent du tube digestif du parasite (DAMIAN, 1967).

c) En outre, dans certaines infections surtout les infections à protozoaires, les auto-anticorps notablement fréquents révèlent l'existence des antigènes d'hôte. C'est le cas dans la trypanosomiase à T. brucei (BOREHAM et FACER, 1974), dans le paludisme où les érythrocytes modifiés sont fréquents (WATSON, 1974).

d) Il est toutefois nécessaire de noter l'import-

tance du tégument de la membrane externe protectrice du parasite dans les antigènes circulants. Au cours de son développement, la membrane externe apparaît en continu renouvellement et contribue ainsi à la protection. De ce fait, dans la schistosomiase depuis le stade "schistosomule" et durant toute la vie du schistosome adulte, des fragments de membrane sont continuellement libérés dans la circulation de l'hôte. De même, certains parasites, tels les Trypanosoma, Plasmodium ou Babesia, présentent sous l'influence de la réponse immune, une variation d'expression de leurs antigènes de surface : cette variation antigénique représente pour le parasite un moyen très sûr d'échapper aux effets des anticorps qu'il a lui-même suscités (BROWN, 1976).

4 - Rôle des antigènes circulants dans la réponse immune de l'hôte

Les antigènes circulants ont des propriétés immunogéniques, antigéniques et tolérogéniques. Chez l'homme parasité, ils entraînent alors une réponse humorale et/ou une réaction cellulaire, et dans certains cas, une modification de la réponse immune.

a) Induction de synthèse des anticorps

Les antigènes circulants induisent la synthèse

se de différentes classes d'anticorps ou une immunité à médiation cellulaire (dans un environnement donné) selon leur quantité libérée dans la circulation.

Expérimentalement, certains auteurs ont pu obtenir plusieurs systèmes précipitants avec un sérum de lapin immunisé contre l'incubat de schistosome (CAPRON ; SADUN et al., 1965). L'incubat est composé de métabolites, d'excrétats et de sécrétats du parasite vivant. Cette réponse immune témoigne de l'immunogénicité des antigènes circulants. Ces antigènes peuvent se lier aux anticorps pour former des immuns complexes. Par exemple, SANTORO et al. (1977) mettent en évidence l'antigène F₄ de S. mansoni dans les immuns complexes précipités dans les sérums de bilharziens.

Si une partie de ces immunoglobulines est synthétisée en réponse aux stimuli d'origine parasitaire, une autre partie semble pourvue d'une spécificité différente et réagit en particulier avec certains antigènes autologues. Cela se traduit dans les faits par une haute incidence d'autoanticorps parmi les sujets vivants en zone d'endémie parasitaire.

Citons par exemple la trypanosomiase dans laquelle une élévation importante des anticorps anti-fibrine/fibrinogène. Les anticorps détectés sont sur-

tout de la classe des IgM (MATTERN, 1968).

b) De plus, dans le paludisme, on a observé que les taux des anticorps anti-érythrocytaires est élevé (WATSON et al. , 1968 ; ADNER et al. , 1968 ; ROSENBERG et al. , 1973). Dans certains cas, GREENWOOD et al. (1971) notent une corrélation entre les hauts titres de facteur rhumatoïde et d'anticorps anti- Plasmodium . Une situation similaire a été décrite dans les infections par trypanosomes, aussi bien dans la trypanosomiase africaine, où sont révélés des anticorps dirigés contre l'ADN monocaténaire (LINDSLEY et al. , 1974), que dans la trypanosomiase américaine où un anticorps particulier a été récemment décrit sous le nom de EVI (COSSIO et al. , 1974). Néanmoins, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la présence d'autoanticorps et l'apparition des manifestations autoimmunes. Alors, apparaît clairement qu'à la très grande fréquence des autoanticorps en zone d'endémie parasitaire, s'oppose la très grande rareté des maladies autoimmunes (GREENWOOD, 1968 ; GREENWOOD et HERRICK, 1970), ce qui tendrait à démontrer que le parasite ou l'antigène circulant diminue l'aptitude des cellules T à s'autoimmuniser. Ces observations ont été faites dans les infections à protozoaires (KLEIN et DINEEN, 1973 ; MACKENZIE et al., 1972 ; MACKENZIE et BOREHAM, 1974 ; MACKENZIE

et FACER, 1974) ou aux helminthes (WISTAR et al. , 1975 ; KURATA, 1966 ; HILLYER, 1971). Il ne semble pas exister de manifestation d'autoimmunisation de type cellulaire mais plutôt un dysfonctionnement du système immunitaire (MANSFIELD et KREIER, 1972 ; TERRY et al. , 1973). L'absence de manifestations d'autoimmunité à médiation cellulaire plaide, par ailleurs, en faveur d'un désordre de l'activité du B lymphocyte ou de la stimulation par les mitogènes d'origine parasitaire, des populations B lymphocytaires. Ceci a été confirmé par GREENWOOD et VICK (1975) qui ont mis en évidence, chez P. falciparum l'existence d'un mitogène et par CAPRON et al. (1976) qui, chez le schistosome, ont révélé la présence de substances mitogéniques et de substances potentiatrices de la réponse lymphocytaire. De telles substances pourraient contribuer à la synthèse désordonnée d'immunoglobulines et à la production d'auto-anticorps.

Par ailleurs, les antigènes circulants induisent non seulement une réponse immune mais peut, dans certains cas, la déprimer, d'où l'immunosuppression.

c) Le concept d'immunosuppression en parasitologie, est lié à des observations initialement faites chez l'homme dans la maladie du sommeil (GREENWOOD et al. , 1973 ; GREENWOOD, 1974), le paludisme

(Mc GREGOR et BARR, 1962), les filarioses (GROVE et FORRES, 1973). La schistosomiase (CAMUS et al., 1974). D'une manière générale, le potentiel considérable de multiplication endogène des parasites protozoaires et leur persistance chez l'hôte, conduisent à une augmentation rapide de la masse antigénique mise en circulation. Celle-ci se traduit non seulement par une augmentation du nombre des parasites figurés, mais également par l'accroissement de la quantité d'antigènes solubles circulants qui sont produits par les parasites et la formation des immuns complexes qui en résultent (WILSON, 1974). Dans les helminthiases, il convient de rappeler que les parasites responsables de ces affections sont des métazoaires à localisation sanguine ou tissulaire, sans pouvoir de multiplication endogène, mais qui constituent de par leur taille et leur activité métabolique, une source importante d'antigènes et de produits de sécrétion.

Ces antigènes circulants sont susceptibles d'induire des phénomènes d'immunosuppression en agissant soit au niveau des lymphocytes, soit au niveau des macrophages, soit par l'intermédiaire des immuns complexes. Il en résulte une tolérance immunologique spécifique.

Une compétition antigénique peut suivre le

relargage des différents antigènes dans la circulation et ceci peut avoir un effet supprimeur sur la réponse immune de l'hôte au cours d'une infection. KATZ et BENACERRAF (1972) ont montré l'intervention des lymphocytes T dans l'immunosuppression. D'autre part, les travaux de MOLLER (1971) démontrent que les antigènes T indépendants sont relativement inefficaces sur l'induction de cette immunodépression. Cependant, RODANTS et GOODMAN (1970) apportent une exception. La compétition apparaît si les haptènes sont liés au même porteur ou à des porteurs différents suggérant que la compétition n'est pas pour porteur un spécifique de cellules T amplificatrices (FAUCI et GOLMAN, 1971). TAUSSIG et LACHMAN (1972) postulent que la compétition pour les sites sur les macrophages peut apparaître mais RANDWICH et RALMEYA (1967) montrent que la compétition entre 2 antigènes particuliers (globules rouges) survient seulement s'ils sont administrés à des moments différents.

Pour ce qui est des antigènes solubles, il existe aussi une compétition vis-à-vis des macrophages. SPITZNAGEL et ALLISON (1970) trouvent que l'injection de sérum albumine bovine (BSA) soluble aux souris (à une dose de 1 mg) réduit la réponse anticorps à la BSA qui a déjà été absorbée par le macrophage.

La déviation immune (revue par ASHERSON, 1967) est une autre forme d'immunosuppression induite par l'antigène. Elle résulte de la présentation simultanée de l'antigène parasitaire dans sa forme soluble et particulaire. La perte sélective de l'hypersensibilité retardée et de l'anticorps- γ_2 a été démontrée avec un grand nombre d'anticorps protéiques chez le cobaye. Pour expliquer la déviation immune, CROWLE et HSU (1966) considèrent l'absence des immunocytes capables pour un type donné d'une réponse à un antigène, plutôt qu'à leur blocage par un processus de compétition. La difficulté pour le parasitologiste dans l'étude de cette situation est que des antigènes bien définis sont demandés pour écarter la possibilité que l'hypersensibilité retardée est dirigée vers un antigène et la réponse anticorps vers un autre antigène (ASHERSON, 1967).

B - LES IMMUNS COMPLEXES CIRCULANTS (CIC)

Les antigènes circulants libérés peuvent se lier aux anticorps spécifiques pour former des immuns complexes. Et la démonstration de l'existence des antigènes circulants constitue un argument en faveur de l'existence d'immuns complexes circulants dans les infections parasitaires. Aussi, l'hypothèse de la présence d'immuns complexes (IC) dans les infections parasitaires a été émise par de nombreux auteurs à la

suite de la mise en évidence de dépôts granuleux au niveau du glomérule rénal dans la schistosomiase (ANDRADE et al. , 1971 ; SILVA et al. , 1970 ; QUEIROZ et al. , 1973). Ces observations furent confirmées grâce aux travaux expérimentaux réalisés chez la souris, le hamster ou le chimpanzé (NATALI et COLI, 1974 ; CAVALLO et al. , 1974 ; HILLYER et LEWERT, 1974).

Toutefois, la formation des CIC constitue l'un des moyens de défense de l'organisme et serait impliquée dans certains cas dans les lésions immunopathologiques fréquemment observées au cours des plus importantes maladies parasitaires : la malaria, les schistosomiasis, les trypanosomiasis, les filarioses et les leishmanioses.

1. Origine des complexes immuns

a) Formation des complexes

Les immuns complexes résultent de l'interaction entre des antigènes et des anticorps. La combinaison se fait entre un déterminant antigénique avec un site anticorps selon des lois fondamentales dont les principales sont les suivantes :

- la spécificité de la réaction : l'anticorps synthétisé par les lymphocytes est dirigé contre l'antigène ou le déterminant. La liaison antigène-anticorps a

lieu au niveau des déterminants situés à la surface de l'antigène et la structure formée présente une complémentarité comparable à l'image du gant et de la main.

- L'union du fragment Fab de l'anticorps avec le site antigène est assurée par des liaisons qui maintiennent entre elles les surfaces complémentaires (liaisons ioniques, liaisons hydrogènes, force de Van der Waals). Ces liaisons ont pour but de rendre forte et constante l'affinité de la réaction antigène-anticorps, néanmoins réversible. Les particules antigènes et les molécules anticorps sont habituellement multivalentes si bien que les combinaisons constituent un réseau. La formation de ces réseaux dépend non seulement de la quantité absolue des anticorps et des antigènes mais aussi de leur relatives proportions. Selon DIXON (1973), trois cas peuvent se présenter :

1° - en zone d'équivalence antigène-anticorps, les complexes immuns insolubles précipitent rapidement et sont captés et dégradés par les macrophages ;

2° - en zone d'excès d'anticorps, il y a formation de gros complexes qui sont éliminés par phagocytose ;

3° - en zone d'excès d'antigènes, les immuns complexes restent solubles et peuvent aller se loger au niveau des organes fortement vascularisés ou au niveau du filtre rénal.

Mais aussi la nature des immunoglobulines im-

pliquées dans les complexes est un facteur important dans la constitution d'un complexe immunitaire qui pour être circulant doit être soluble. Par exemple, les IgM, molécules en général pentavalentes formeront plus facilement les complexes que les IgG bivalentes.

La formation des complexes immunitaires circulants est donc un phénomène qualitatif et quantitatif.

Pour ce qui est du lieu de formation des complexes immunitaires, la circulation sanguine d'une part est importante : quand de grandes quantités d'antigènes circulent dans le flux sanguin et que des anticorps sont produits, il se trouve un excès d'antigène et donc une formation de complexes solubles. Si l'antigène est de faible poids moléculaire, les CI circulent longtemps. Si l'antigène est de poids moléculaire élevé, les CI se déposent rapidement et massivement, leur action pathogène se manifeste alors - d'où la maladie sérique.

D'autre part, les CI se forment dans les espaces extravasculaires : lorsque l'antigène est situé ou se dépose dans les tissus et que l'anticorps correspondant existant dans le sérum diffuse dans ces tissus, il y a formation de CI avec développement d'une réaction inflammatoire in situ : c'est le cas du phénomène d'Arthus.

b) Devenir des complexes immuns circulants

Les CI insolubles formés en zone d'équivalence ou en excès d'anticorps sont rapidement phagocytés. Ils sont au contraire solubles et circulants s'ils sont formés en excès d'antigènes.

En général, les CIC sont destinés à être phagocytés et éliminés par les polynucléaires et les macrophages circulants ou tissulaires et en particulier par les cellules de Küpfer. Les complexes de petite taille se déposent avant leur destruction dans la paroi des organes fortement vascularisés et du filtre rénal (COCHRANE et HAWKINS, 1968). Les gros complexes pourtant plus dangereux pour les vaisseaux et les glomérules sont les plus rapidement éliminés par phagocytose. La vitesse d'élimination dépend non seulement de la taille du complexe mais aussi de leur aptitude à activer le système du complément et de l'affinité entre antigène et anticorps.

2 - Propriétés biologiques des immuns complexes

a) Activation du système du complément

Les immuns complexes peuvent activer le système du complément par les voies classique et alterne. La voie classique semble être la plus impliquée chez l'homme. Seule, les IgG et les IgM peuvent activer cette voie (MULLER-EBERHAR, 1975). Les complexes formés avec les IgA, IgE et IgD ne semblent pas l'activer

(MULLER-EBERHARD, 1975). Au cours de l'activation du complément, les composants tels que le C_3 , le C_4 ou la properdine, peuvent se fixer aux tissus à l'endroit où les complexes se sont déposés.

a-1) Conséquences biologiques de l'activation du complément

L'activation du système du complément entraîne de nombreux phénomènes biologiques dont les plus importants sont les suivants :

- le Chimiotactisme : en effet, certains composants du complément dont le complexe C_{567} (WARD et BECKER, 1967), le C_{5a} , fragment du clivage de C_5 (SHIN et Coll., 1968 ; WARD, 1968) et probablement un produit de dégradation du C_{5a} , ont la propriété d'attirer les polynucléaires neutrophiles (leucocytes). En résumé, le chimiotactisme est une migration cellulaire provoquée par un stimulus chimique.

- l'exocytose des lysosomes des neutrophiles. En plus de son effet chimiotactique, le C_{5a} peut induire la libération du contenu enzymatique des lysosomes des neutrophiles à l'extérieur de la cellule provoquant ainsi des lésions tissulaires (HENSON, 1971).

- l'activité cytolytique : lorsque les antigènes cellulaires (bactéries, virus, cellules cancérigènes) se lient à leurs anticorps spécifiques, il en résulte

un complexe Ag-Ac qui fixe le complément, les cellules sont lysées par les composants terminaux du système du complément (MULLER-EBERHARD, 1969)

- l'activité anaphylatoxique : l'activation du complément produit la plupart du temps les anaphylatoxines médiatrices d'une réaction inflammatoire. En effet, ces anaphylatoxines proviennent des fragments de clivage du C_3 et du C_5 (C_{3a} et C_{5a}) ; elles activent une sérine estérase à la surface des mastocytes (DIAS DA SILVA et al., 1967 ; COCHRANE et MULLER-EBERHARD, 1968 ; SHIN et al., 1968) et des basophiles entraînant la libération d'amines vasomotrices dont l'histamine responsable de la perméabilité capillaire, favorisant le dépôt d'immuns complexes.

- l'immunoadhérence du C_3 : les leucocytes peuvent être liés au C_{3b} , lequel est fixé aux membranes où le complément a été activé (EDEN, MILLER et NUSSENZWEIG, 1973). Il en est de même pour les leucocytes (THEOFILOPOULOS, DIXON et BOKISCH, 1974) et les plaquettes (HENSON, 1970). Mais cette immunoadhérence est vite inactivée par le C_{3b} inactivateur appelé aussi "konglutinin activating factor (KAF)". Le C_{4b} semble aussi intervenir dans l'immunoadhérence (ROSS et POLLEY).

a-2) Conséquences pathologiques de l'activation
du complément

L'effet de l'activation du complément peut apparaître dans certains cas immunopathologiques. La libération d'enzymes par les cellules de l'hôte interviennent pour une grande part dans les mécanismes responsables des phénomènes inflammatoires observés dans les tissus où se sont déposés les immuns complexes (HENSON et COCHRANE, 1971). Les modèles expérimentaux ont été d'un grand intérêt dans l'étude de ces phénomènes immunopathologiques.

HENSON, en 1971, observe une absence d'accumulation des neutrophiles et de lésions arthritiques chez des lapins dont le C_3 et les composants terminaux du complément ont été éliminés par le venin de cobra.

b) Activation des cellules par les immuns complexes

Les immuns complexes circulants activent le système de défense cellulaire de l'organisme de deux manières. D'une part, ils déclenchent la réponse des cellules responsables de la réponse immune en agissant au niveau des récepteurs cellulaires grâce à l'antigène ; d'autre part, l'activation des cellules se fait par l'intermédiaire du fragment Fc des immunoglobulines ou de certains fragments du complément.

b-1) Les neutrophiles

Une fois les immuns complexes fixés à la surface des neutrophiles grâce aux immunoglobulines, il s'en suit une dégranulation des cellules suivie d'une libération dans le milieu extracellulaire, d'enzymes protéolytiques qui augmentent la perméabilité des vaisseaux et stimulent le système de coagulation. Les immunoglobulines les plus actives sont les IgG1, 2, 3 et 4; les IgA et IgD agissent - plus faiblement - sur les neutrophiles (HENSON, 1971).

b-2) Les plaquettes

Stimulées par le fragment Fc des immunoglobulines complexées (IgG1, 2, 3) (PENTTINEN et al. ,1971), les plaquettes libèrent des amines vasomotrices et des nucléotides (COCHRANE, 1971). D'autre part, l'activation des plaquettes dépendrait aussi du "PAF" (Platelet activating factor) libéré par les basophiles et mastocytes activés par les complexes à IgE (BENVENISTE, 1973).

b-3) Les éosinophiles : les helminthiases sont souvent associées à une augmentation importante du nombre d'éosinophiles circulants. Ces cellules portent des récepteurs membranaires pour les fragments Fc des immunoglobulines, en particulier les IgG (TORISU et al. , 1973 ; SPRY et TAY, 1976) et pour le C_{3b} (TAY et SPRY, 1976).

En outre, après activation par des anticorps

ou des complexes immuns spécifiques du parasite, les éosinophiles deviennent cytotoxiques ; cette cytotoxicité a été montrée vis-à-vis des formes larvaires de Schistosoma mansoni (BUTTERWORTH, STURROCK et HOUBA, 1975 ; CAPRON et al. , 1977), de D. viteae (HAQUE et al. , 1981) et de Trichostrongylus colubriformis (ROTHWELL et DINEN, 1972).

b-4) Les mastocytes et les basophiles : ces deux cellules, bien que différentes, présentent vis-à-vis des immuns complexes, une même réactivité et portent des récepteurs membranaires pour les anticorps IgE. Stimulés, ils libèrent l'héparine, l'histamine, des leucotriènes, un "facteur chimiotactique de l'éosinophile et du neutrophile, et le "PAF". Les complexes à IgE seraient responsables de la libération du PAF.

b-5) Les monocytes : Ce sont des cellules phagocytaires souvent localisées au site de l'inflammation. Ces cellules portent à leur surface les récepteurs pour les Fc des IgM et IgG₃ (HUBER et al. , 1971 ; HOLM et al. , 1974) et pour les composants du complément. CAPRON et al. (1977a) ont mis en évidence un récepteur pour les fragments Fc des IgE sur les macrophages. Les hématies sensibilisées avec les IgG₁ ou les IgG₃ sont phagocytées (LOBUGLIO et al. , 1967 ; HUBER et al. 1971) ou sont lysées par les monocytes (HOLM et al. , 1974)

. Les composants C_3 du complément liés aux hématies activent les macrophages qui portent à leur surface des récepteurs pour cette fraction (HUBER et al. , 1968).

b-6) Les lymphocytes : Ils regroupent 3 grandes populations : les lymphocytes T, les lymphocytes B et les lymphocytes plus petits dépourvus de caractère spécifique des cellules B et des cellules T. Les lymphocytes B portent les immunoglobulines de surface et des récepteurs pour le fragment Fc des IgG et pour les composants C_{3b} et C_{3d} du complément (EDEN et al. , 1973). Récemment, SPIEGELBERG (1979) a décrit un récepteur pour le Fc des IgE. Les récepteurs sont absents sur les cellules productrices d'anticorps. Tandis que la majorité des lymphocytes T sont dépourvus de récepteurs pour le Fc, il est possible qu'une partie des T lymphocytes stimulée par des antigènes porte des récepteurs pour le fragment Fc des IgG ou des IgM. Mais ces récepteurs ont une faible affinité (EDEN et al. , 1973).

La troisième catégorie de lymphocytes (5 à 15 % des lymphocytes sanguins) est très hétérogène. Elle comprend des cellules dépourvues de récepteurs et des cellules tueuses (lymphocytes K) qui induisent une cytolysse médiée par des anticorps, ces dernières ont des récepteurs pour le fragment Fc mais ne portent pas

les immunoglobulines de surface.

L'interaction entre les récepteurs lymphocytaires et les immuns complexes peut modifier la réponse immune (COUTINHO et MOLLER, 1975 ; KONTIAINEN et MITCHINSON, 1975). REVOLTA et al. , (1975) ont montré in vitro que les lymphocytes de la moëlle osseuse sont stimulés par des immuns complexes en excès d'antigène. La liaison de tels complexes aux lymphocytes induit une transformation lymphoblastique qui se termine par la production de cellules sécrétrices d'anticorps spécifiques de l'antigène.

Cependant, des surnageants obtenus après la formation in vitro des immuns complexes en excès d'antigènes stimulent souvent les lymphocytes, mais inhibent leur réponse si aucun antigène n'est ajouté à la culture (OPPENHEIM, 1972). Par contre, les surnageants de complexes en zone d'équivalence et en excès d'antigène stimulent beaucoup plus les lymphocytes. De plus, les précipités correspondants, même ceux en excès d'anticorps, stimulent aussi les lymphocytes de façon plus intense que l'antigène seul. Ainsi, l'augmentation de la synthèse des anticorps semble être due à une augmentation de l'agrégation de l'antigène (OPPENHEIM, 1972).

C - Effet des immuns complexes sur la réponse humorale

- Les immuns complexes seraient responsables du blocage du développement de l'hypersensibilité retardée par les cellules T (Mac KANESS et al. , 1974). Ceci a été confirmé par LAGRANGE et Mac KANESS (1975) qui ont observé une absence d'hypersensibilité retardée dans les pattes de souris immunisée avec des globules rouges de mouton par injection intraveineuse.

- Dans le cas de la cytotoxicité à médiation cellulaire, il existe des facteurs sériques chez l'homme et les animaux qui inhibent de façon spécifique la lymphocytotoxicité vis-à-vis des cellules tumorales (HELLSTROM et HELLSTROM, 1974), le facteur bloquant semble être un complexe immun.

La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC) est inhibée par des complexes solubles en léger excès d'antigène (Mac LENNAN, 1972). Ces immuns complexes occupent les récepteurs Fc et les sites de liaison anticorps des Ac présents sur les lymphocytes (SAKSELA et al. , 1975).

En conclusion, les complexes immuns circulants apparaissent donc comme l'un des composants majeurs du système immunitaire. A cet effet, plusieurs facteurs doivent être réunis.

- Le rapport antigène-anticorps : la formation des complexes doit se faire en excès d'antigène pour être soluble ;

Certains auteurs (UHR et MOLLER, 1968 ; TERRES et al. , 1974) ont montré que l'injection des complexes en excès d'antigènes augmente la réponse en anticorps. Par contre, l'administration des complexes immuns en excès d'anticorps supprime la réponse anticorps (FELMANN et DIENE, 1970 ; HOUSTON et al. , 1974), ce phénomène est plus remarquable durant la réponse primaire qu'au cours de la réponse secondaire, cette dernière peut être inhibée par des immuns complexes en excès d'antigène (MORGAN et TEMPELIS, 1977). L'augmentation des Ac après injection des CI en excès d'Ag ou en zone d'équivalence est en corrélation avec l'augmentation des centres germinaux (LAISSUE et al. , 1971 ; DENNERT, 1971). Les complexes immuns en excès d'anticorps sont inefficaces (HOUSTON et al. , 1974). L'étude de la différenciation lymphocytaire chez la souris a permis à REVOLTELLA et al. de montrer qu'après stimulation par des immuns complexes en excès d'antigène, les lymphocytes sensibilisés donnent davantage de plasmocytes, donc plus d'anticorps jusqu'au 7e jour de culture, mais une fois en excès d'anticorps, la synthèse anticorpale est inhibée.

d - Effets des complexes immuns sur la réponse immune à médiation cellulaire dépendante ou non dépendante d'anticorps

- Les immuns complexes seraient responsables du blocage du développement de l'hypersensibilité retardée par les cellules T (Mac KANESS et al. , 1974). Ceci a été confirmé par LAGRANGE et Mac KANESS (1975) qui ont observé une absence d'hypersensibilité retardée dans les pattes de souris immunisée avec des globules rouges de mouton par injection intraveineuse.

- Dans le cas de la cytotoxicité à médiation cellulaire, il existe des facteurs sériques chez l'homme et les animaux qui inhibent de façon spécifique la lymphocytotoxicité vis-à-vis des cellules tumorales (HELLSTROM et HELLSTROM, 1974), le facteur bloquant semble être un complexe immun.

La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC) est inhibée par des complexes solubles en léger excès d'antigène (Mac LENNAN, 1972). Ces immuns complexes occupent les récepteurs Fc et les sites de liaison anticorps des Ac présents sur les lymphocytes (SAKSELA et al. , 1975).

En conclusion, les complexes immuns circulants apparaissent donc comme l'un des composants majeurs du système immunitaire. A cet effet, plusieurs facteurs doivent être réunis.

- Le rapport antigène-anticorps : la formation des complexes doit se faire en excès d'antigène pour être soluble ;

- La taille des complexes : plus la taille est petite et plus les complexes restent longtemps dans la circulation ;

- La valence de l'anticorps : les globulines de grande valence constituent des agrégats denses rendant les complexes peu solubles par exemple les IgM. Les immunoglobulines bivalentes du type IgG favorisent la formation d'immuns complexes circulants.

3 - MALADIES LIEES A LA FORMATION DES IMMUNS COMPLEXES

Les immuns complexes ont été incriminés en pathologie humaine du fait de leur présence dans le sérum et/ou dans les tissus où l'on a observé des lésions. Mais la relation de cause à effet n'est pas encore bien définie. Dans certains cas, il y a de bonnes raisons de penser que les immuns complexes provoquent les lésions. Lorsqu'ils sont formés en grande quantité, dépassant les possibilités physiologiques d'épuration immune, ils se déposent dans les parois vasculaires de divers organes et y déclenchent des lésions inflammatoires et nécrotiques.

a) Les infections parasitaires

Les parasitoses sont caractérisées par la persistance chez l'hôte du parasite qui relargue un certain nombre d'antigènes circulants dans les tissus

ou dans la circulation sanguine. Cette libération d'antigènes est le plus souvent suivie d'une synthèse d'anticorps entraînant la formation des immuns complexes. Ces immuns complexes seraient impliqués dans les lésions immunopathologiques souvent observées au cours des plus importantes maladies parasitaires : le paludisme, les trypanosomiasés, les leishmaniosés, les schistosomiasés et les filariosés.

a_1 Dans le paludisme, les immuns complexes sont incriminés dans la pathogénie des lésions rénales, dans la splénomégalie tropicale, dans l'anémie et l'autoimmunité (ZIGLER, 1973 ; OMS, 1975). Les antigènes du Plasmodium circulent soit libres, soit liés dans des immuns complexes (principalement avec des anticorps IgM) pendant plusieurs semaines après élimination des parasites grâce à la chimiothérapie (HOUBA et WILLIAMS, 1972).

a_2 Les immuns complexes sont fréquemment élevés dans les Trypanosomiasés. Les antigènes complexés proviennent surtout de la variation de la surface du parasite et les anticorps surtout des IgM (WEITZ, 1960 ; GRAY, 1962). Aussi, les parasites libèrent dans certains tissus les antigènes aboutissant à la formation locale d'immuns complexes et aux lésions des organes (lésions cardiaques et rénales) (LAMBERT et DIXON, 1968)

a-3 La schistosomiase est l'une des infections dans lesquelles les immuns complexes ont été largement étudiés (PHILLIPS et DRAPER, 1975 ; SMITH et al. , 1975a ; BOUT et al. , 1977).

Des lésions rénales du type dû à des immuns complexes ont été décrites dans des modèles expérimentaux et dans des infections humaines à S. mansoni et S. japonicum (ANDRADE et al. , 1971 ; BRITO et al. , 1971 ; CAVALLO et al. , 1974 ; von LICHTENBERG et al. , 1971 ; OUEIROZ et al. , 1973 ; SILVA et al. , 1970) mais dans la plupart des études, seules les immunoglobulines et le complément ont été détectés par immunofluorescence.

La présence d'antigènes spécifiques du schistosome en même temps que les IgG, IgM et IgE et la fraction C₃ du complément ont été révélés chez l'homme (HOSHINO-SHIMIZU et al. , 1976), chez la souris (NATALI et CIOLI, 1976 ; ANDRADE et SUSIN, 1974) chez le hamster, le babouin (HOSHINOSHIMIZU et al. , 1975) ou le singe (BRITO et al. , 1971 ; RAVALLI, 1974).

a-4) L'Onchocercose

Les immuns complexes circulants ont été détectés dans les sérums des patients onchocerquiens (LAMBERT et al. , 1978 ; PAGANELLI et al. , 1980 ; GREENE et al. , 1980) de même que des concentra-

tions subnormales de C_{1q} , C_4 et C_3 , et des titres élevés d'immunoconglutinines (NGU et BLACKETT, 1976). Mais le rôle des immuns complexes dans la pathologie de l'Onchocercose n'est pas encore bien défini, toutefois les lésions pouvant impliquer leur présence apparaissent souvent au cours de cette infection. Chez les malades traités par la Notézine, en 15 minutes à 4 heures, au point où sont logés les parasites, se développe une tuméfaction qui s'efface dans les 24 heures. Aussi, 8 à 24 heures après le traitement, fièvre et gonflements articulaires, apparaissent chez certains malades, cet aspect est comparable au phénomène d'Arthus. On en conclut que l'antigène, brusquement libéré par des parasites en voie de destruction, forment avec l'anticorps véhiculé par le courant sanguin des complexes à l'intérieur des vaisseaux et autour d'eux, provoquant l'infiltration par des leucocytes polynucléaires et la dégranulation de ces derniers (GUERRA et al., 1980 ; MACKENZIE, 1980). A la suite de certaines observations, on a pensé que les immuns complexes formés au cours de la maladie contribueraient à la pathogénie des lésions oculaires conduisant à la cécité. Une vascularité rétinale est aussi une caractéristique de l'Onchocercose (ANDERSON et FONT, 1976). Une anomalie apparaît au niveau des vaisseaux rétiniens des patients après administration de la Notézine (BIRD et al., 1979). De plus,

les immuns complexes sont impliqués dans les lésions oculaires. Une atrophie optique est une séquelle couramment rencontrée dans les infections à O. volvulus (ANDERSON et FONT, 1976) et l'uvéite, autre lésion oculaire de l'Onchocercose, peut aussi être induite par les immuns complexes (WONG et al., 1971). Dans certains cas, à la suite de drogues microfilaricides, on observe des accumulations périvasculaires des granulocytes autour des vaisseaux conjonctifs (MACKENZIE, 1980) et ces réactions évoquent la présence d'immuns complexes.

D'autres lésions liées aux complexes ont été citées dans l'Onchocercose. Ce sont des lésions testiculaires provoquant la stérilité ou des lésions situées ailleurs.

b) Maladies auto-immunes

- Dans la polyarthrite rhumatoïde, les immuns complexes ont été décelés par différentes méthodes dans le sérum (KUNKEL et al. , 1961 ; AGNELLO et al. ,1971 ; LUTHRA et al. , 1977 ; NORBERG, 1974 ; ZUBLER et al. , 1976b) et dans le liquide synovial (WINCHESTER et al. , 1970, 1971).

- Une autre maladie auto-immune est le lupus érythémateux : c'est un désordre immunopathologique durant lequel il existe une corrélation entre les mani-

festations cliniques et la concentration des immuns complexes circulants et la consommation du complément (GEWURZ et al. , 1968 ; PERIN, et al. , 1974).

. Les complexes sont formés pour la plupart de DNA et anti-DNA cependant d'autres antigènes nucléaires peuvent être retrouvés.

Outre les infections parasitaires et les maladies auto-immunes, les immuns complexes sont aussi impliqués dans les infections bactériennes telles que la lèpre (BJORVATN et al. , 1976) et la glomérulonéphrite post-streptococcique (MICHAEL, 1966) qui sont les plus évoquées.

D'après de récents travaux, les infections virales sont aussi à l'origine d'une élévation des immuns complexes (OLDSTONE, 1977). Parmi ces viroses, les plus étudiées sont l'hépatite virale (ALMEIDA et WATTERSON, 1969) et la dengue (SOBEL, BOKISH et MULLER-EBERHARD, 1975).

4. Mise en évidence des immuns complexes circulants

Les méthodes permettant la mise en évidence des complexes immuns circulants peuvent être classées en deux groupes. D'une part, les techniques "non spécifiques de l'antigène" détectent les immuns complexes indépendamment de la nature de l'antigène complexé ; d'autre part, les méthodes "spécifiques" de l'antigène

détectent sélectivement les immuns complexes comprenant un antigène donné en discriminant les antigènes libres. Les techniques les plus couramment utilisées sont :

a) Méthodes non spécifiques de l'antigène

Ces méthodes sont basées sur les propriétés permettant de distinguer les immunoglobulines ou le complément complexé des immunoglobulines ou du complément libre. Ce sont les propriétés physiques des immuns complexes d'une part et d'autre part des propriétés biologiques. Toutefois, ces méthodes détectent non seulement les immuns complexes, mais aussi les immunoglobulines agrégées.

a-1) Méthodes fondées sur les propriétés physiques des immuns complexes

a.1.1. L'ultracentrifugation analytique

Cette technique a présenté des anomalies en raison de la présence des immuns complexes IgG-IgM au pic 22 et des complexes IgG-IgG au pic 17S (KUNKEL et al. , 1961). L'ultracentrifugation analytique ne permet pas d'affirmer la présence exclusive des immuns complexes car d'autres éléments de poids moléculaire élevé peuvent être précipités dans le culot.

a.1.2. La précipitation en polyéthylène-glycol (PEG)

Certains milieux peuvent également être employés pour précipiter les immuns complexes et les

grosses molécules du sérum dans les conditions où les molécules d'immunoglobulines libres resteraient solubles. Ces milieux sont généralement utilisés pour séparer les protéines sériques d'après leurs propriétés physiques. La précipitation en polyéthylène-glycol (PEG, poids moléculaire 6000) a été appliquée à des recherches cliniques (CREIGHTON, LAMBERT et MIESCHER, 1973). L'addition au sérum du PEG, entraîne une précipitation de protéines proportionnelle à la concentration de PEG. L'importance de la précipitation de chaque protéine est proportionnelle à son poids moléculaire (ZUBLER et al. , 1976), de façon que, pour de faibles concentrations de PEG, ce soient surtout les protéines de poids moléculaire élevé et les immuns complexes qui sont précipités. Dans plusieurs situations pathologiques, on a trouvé une corrélation entre la concentration importante du contenu protéine des précipités en PEG et le taux des immuns complexes (HERREMAN et al. , 1975 ; DIGEON et al. , 1977).

Dans certains cas, des protéines sériques de haut poids moléculaire peuvent être précipitées avec les immuns complexes et de ce fait fausser les résultats ; pour cela, une analyse biologique et immunologique des protéines précipitées donnera des informations précises. En effet, une élévation de la fraction d'IgG

sérique précipitable dans une faible concentration de PEG indique la présence d'IgG agrégée ou complexée dans l'échantillon de sérum étudié, le phénomène a été fréquemment observé dans le sérum des malades atteints de lupus érythémateux (LAMBETT et al. , 1972).

a.2. Interaction avec le Complément

L'interaction des immuns complexes avec le système du complément ou avec certains de ses composants a été largement exploitée dans le but de détecter ces complexes. Il est important de vérifier que l'effet de fixation du complément est bien dû aux immuns complexes.

Test de liaison au C_{1q}

Ce test est une technique radioimmunologique décrite par NYDEGGER et al. , 1974. Elle consiste à incuber le liquide biologique à tester avec le C_{1q} radiomarqué ; après un temps de contact, le C_{1q} libre est séparé de celui qui est fixé à des immuns complexes par une précipitation différentielle en PEG. Le pourcentage de C_{1q} marqué et précipité indique la quantité de complexes.

Le traitement des échantillons par l'EDTA évite la nécessité de chauffer et en outre la réactivité du C_{1q} avec les complexes de protéine C-réactive (ZUBLER et al. , 1976a ; ZUBLER et LAMBERT, 1976). Dans ces conditions, on a rarement les précipités formés par

le C_{1q} et les substances de faible poids moléculaire, ou d'autres qui sont bien solubles dans le polyéthylène glycol (par exemple ADN ou endotoxines). Le test de liaison au C_{1q} a été utilisé pour la détection des immuns complexes circulants dans diverses maladies : le lupus érythémateux (NYDEGGER et al. , 1974 ; ZUBLER et LAMBERT, 1976 ; ZUBLER et al. , 1976), l'hépatite virale (NYDEGGER et al. , 1974), la polyarthrite rhumatoïde (ZUBLER et al. , 1977), la lèpre (BJORVATN et al. , 1976) les leucémies (CARPENTIER et al. , 1976) et les glomérulonéphrites (ROSSEN et al. , 1977).

On a récemment mis au point des tests de fixation du C_{1q} en phase solide. Le sérum est incubé dans les tubes de polystyrène sur lesquels est fixé le C_{1q} , la quantité d'immuns complexes ayant réagi avec le C_{1q} est ensuite mesurée après une nouvelle incubation avec une antiglobuline radiomarquée (HAY et al. , 1976) ou couplée à une enzyme (AHLSTEDT, 1976).

C - CONCLUSION

Les antigènes circulants varient suivant leur poids moléculaire et leur nature (polysaccharide ou protéine) durant l'infection, ils induisent la synthèse de différentes classes d'immunoglobulines ou une immunité à médiation cellulaire. Leur activité dépend dans une certaine mesure de leur durée dans l'organisme et

la quantité libérée chez l'hôte. La présence des antigènes circulants chez un hôte peut entraîner différents effets physiologiques : d'une part, une immunisation de l'organisme qui aboutit à une protection, cette protection peut parfois être déviée par l'intermédiaire des anticorps bloquants, d'autre part, à la neutralisation des fonctions anticorps, les antigènes empêchent ces derniers d'atteindre les cibles ; enfin, les antigènes circulants entraînent la tolérance ou l'immunosuppression quand l'antigène circulant est tolérogène comparativement aux antigènes particuliers qui sont immunogènes, le même phénomène peut se présenter quand la dose de l'immunogène libéré est très élevée (particulièrement avec les polysaccharides).

Les immuns complexes peuvent à leur tour induire différentes réactions. Ils peuvent être hautement immunogènes si le rapport antigène-anticorps est élevé ou tolérogène quand ce rapport est faible ; rappelons que, au moins in vitro, les immuns complexes sont capables de se combiner aux cellules pour être des médiateurs effectifs de la protection (CAPRON et al., 1976). Sur le plan pathologique, ils causent des glomérulonéphrites et des lésions au niveau de certains tissus, (vaisseaux, conjonctivites) la localisation des lésions dépend en partie de la taille des complexes.

CHAPITRE III - IgE : DONNEES GENERALES

INTRODUCTION

Les IgE, anticorps anaphylactiques ont été largement étudiés depuis le début du siècle. Leur présence fut démontrée par PRAUSNITZ et KUSTNER en 1921, en même temps que l'anaphylaxie passive. Ces anticorps se fixent fortement dans les territoires cutanés où ils sont injectés, persistant plusieurs semaines après le transfert passif. Mais ils ne sensibilisent pas la peau d'autres espèces, sauf celles des singes supérieurs pour l'IgE humaine, d'où le nom d'anticorps homocytotropes.

D'autres propriétés de ces anticorps ont été mises en évidence telles :

- la thermolabilité : l'activité anaphylactique est détruite par chauffage quelques heures à 56°C ;
- la sensibilité au 2-mercaptoéthanol ;
- l'inaptitude à fixer le complément, par la voie classique ;
- ces anticorps bien qu'ayant une spécificité comparable à celle des autres anticorps ne précipitent pas l'antigène.

Les anticorps anaphylactiques appelés aussi anticorps spécifiques ou réagines sont responsables de certaines manifestations allergiques observées chez l'homme. Les réagines anti-parasite ont été mises en

évidence dans les helminthiases. En 1966, ISHIZAKA et al. (1966a, 1966b) isolent et caractérisent des réagines. L'immunisation des lapins avec une fraction très riche en réagine obtenue après fractionnement de sérums de malades allergiques au pollen d'Amboroisia a conduit à la production d'anticorps contre une immunoglobuline différente des IgG, IgA, IgM et IgD, à laquelle ISHIZAKA et al. (1966) ont donné le nom d'IgE. JOHANSSON et BENNICH découvrent une protéine myélomateuse (IgND), différente des autres classes d'immunoglobulines et identique à l'IgE d'ISHIZAKA et al. (BENNICH et al. , 1969). Des myélomes sécrétant cette classe d'immunoglobuline ont été décrits chez une souche de rat par BAZIN et al. (1974).

A - STRUCTURE ET SYNTHÈSE DE L'IgE

1. Structure de l'IgE

L'IgE est une glycoprotéine de poids moléculaire d'environ 190 000 dalton. Sa constante de sédimentation est de 8,2S. Le schéma général de sa structure est identique à celui des autres classes d'immunoglobulines, c'est-à-dire qu'il comporte l'association par des ponts disulfures de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères.

La papaïne clive la molécule d'IgE en trois fragments : 2 fragments Fab comportant le site

l'IgA.

La réponse IgE dépend de différents facteurs immunologiques.

a) L'espèce animale : la réponse IgE varie selon l'espèce animale. Certains individus immunisés par un extrait de pollen synthétisent des IgE qui disparaissent en 2 à 3 mois, une réponse secondaire peut être observée après la saison de pollen chez un petit nombre de sujets immunisés. L'immunisation du rat par l'ovalbumine et l'alumine entraîne une production d'anticorps IgE maximale entre le 10ème et 14ème jour et qui décline ensuite. En général, une réponse secondaire n'apparaît pas après une injection de rappel. Une autre lignée de rat, tel que le rat HOODED-LISTER se caractérise par la production de taux élevés d'anticorps IgE après injection d'antigènes avec du vaccin anti-coquelucheux, une injection de rappel induit une réponse secondaire. La réponse IgE chez le lapin est très faible et une réponse secondaire ne peut être obtenue. Certaines lignées de souris se caractérisent par une réponse IgE persistant plusieurs mois, même après l'injection d'une faible dose d'antigène (0,1 ug) ; cette lignée représente de ce fait un bon modèle expérimental pour l'étude de l'allergie (ISHIZAKA, 1976).

b) Facteurs génétiques : La réponse IgE est contrôlée par des gènes situés sur un seul locus autosomique (lo-

anticorps (chaîne légère + partie N terminale de la chaîne lourde) et, sous certaines conditions, un gros fragment $Fc\epsilon$ qui a la propriété de se fixer aux tissus. Le $Fc\epsilon$ inhibe le transfert passif dans la peau humaine et porte les déterminants isotypiques.

2. Biosynthèse de l'IgE et facteurs immunologiques de la réponse IgE

L'IgE est synthétisée par des cellules d'origine médullaire : les lymphocytes B.

Les cellules lymphocytaires à IgE (ISHIZAKA et al. , 1969 ; TADA et ISHIZAKA, 1970) ont une répartition prédominante dans les muqueuses intestinale et respiratoire ainsi que dans les ganglions régionaux correspondants ; elles sont peu abondantes dans la rate et les ganglions superficiels. Des travaux plus récents (MAYRHOFER et al. , 1976) ont montré que les cellules à IgE de la muqueuse intestinale ne sont pas des plasmocytes mais des mastocytes possédant de l'IgE intracellulaire. Le site majeur de synthèse de l'IgE est le ganglion mésentérique, alors que très peu de cellules produisant l'IgE sont présentes dans le tissu lymphoïde pulmonaire et la rate.

La présence des mastocytes entre les cellules épithéliales de l'intestin expliquerait pourquoi l'IgE peut être décelée dans les sécrétions, bien qu'elle ne soit pas une immunoglobuline sécrétoire telle que

cus Irl) fortement lié au système H-2 sur le groupe linkage IX. Lorsque les souris sont immunisées avec des conjugués haptène-protéine, la différence entre les lignées est liée à la protéine porteuse, ce qui suggère que le contrôle génétique s'exerce sur les lymphocytes T. La réponse IgE présente ou absente chez une lignée est indépendante de la dose et de la nature de l'antigène. Chez l'homme, les études familiales réalisées ont permis de démontrer l'existence de gènes Ir contrôlant la réponse aux antigènes de pollen d'ambrosia. Un autre contrôle génétique s'exerçant sur la réponse globale des IgE chez l'homme a été démontré par MARSH et al (1974). Deux gènes allèles autosomiques contrôlent la production globale des IgE ; l'un, récessif, détermine la production de taux élevés d'IgE, l'autre, dominant, la production de taux faibles. Ces gènes ne sont pas liés au système HLA, et paraissent masquer le rôle joué par les gènes Ir. En somme, les sujets possédant des taux élevés d'IgE sont allergiques à de nombreux antigènes, tandis que les sujets possédant des taux faibles ne sont sensibles qu'à un petit nombre.

En résumé, chez l'homme, comme chez la souris deux types de contrôles génétiques s'exercent sur la réponse IgE :

- l'un, dépendant des gènes Ir liés au système majeur d'histocompatibilité, contrôle la réponse IgE à des an-

tigènes déterminés ;

- l'autre, indépendant des gènes Ir, s'exerce sur la production globale des IgE.

c) Nature et dose de l'antigène : les antigènes qui induisent une réponse IgE, appelés aussi allergènes, sont tous des antigènes T-dépendants.

La dose d'antigène est très importante pour l'immunisation. Des doses faibles d'antigènes permettent d'obtenir une réponse IgE primaire ou secondaire, que des doses élevées (JARETT et STEWART, 1974 ; REVOLTELLA et OVARY, 1969).

B. PROPRIETES BIOLOGIQUES DE L'IgE

Les propriétés biologiques de l'IgE sont liées à son interaction avec les cellules cibles : les mastocytes, les polynucléaires basophiles, les éosinophiles et les macrophages. Les études de l'activité réaginique de l'IgE ont d'abord été réalisées in vivo : il s'agit des réactions d'anaphylaxie cutanée passive (PCA) ou de PRAUSNITZ-KUSTNER chez l'homme. Par la suite, les études in vitro avec les IgE de myélome et des cellules cibles ont permis une approche de l'interaction IgE-mastocyte.

1. Interaction de l'IgE et des mastocytes

Les études in vitro des propriétés réaginiques de l'IgE ont permis la reconnaissance des mastocy-

tes et des basophiles comme les cellules cibles privilégiées de cette immunoglobuline.

Cette immunoglobuline se fixe sur ces cellules polynucléaires pour induire une réaction d'hypersensibilité immédiate qui comprend 3 étapes :

a) la première étape consiste en la fixation sur le mastocyte ou le polynucléaire basophile. Les premières études de la fixation de l'IgE ont été entreprises avec des polynucléaires basophiles humains et de l'IgE de myélome (ISHIZAKA et al. , 1970 ; ISHIZAKA et al. , 1972). Cette immunoglobuline se fixe exclusivement à la surface des cellules cibles par sa partie FcE sur un récepteur qui constitue un site de fixation spécifique de l'IgE (STANWORTH et al. , 1967, 1968 ; BENNICH et al. , 1976).

b) La seconde étape résulte de l'interaction de l'IgE avec l'antigène (allergène) et aboutit à la libération de médiateur chimique : histamine, sérotonine, SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis, etc...). Ceci implique le récepteur dans la séquence d'évènements cellulaires aboutissant à cette libération non cytolytique, d'où la fonction activatrice du récepteur. L'activation mastocytaire est une légère modification de la molécule d'IgE fixée à la surface cellulaire, due à la combinaison de l'IgE avec l'allergène, les complexes IgE-allergène doivent être en léger excès d'antigène

(Ag3Ac2) pour que l'activation mastocytaire ait lieu (ISHIZAKA et ISHIZAKA, 1968b). L'allergène doit être au moins bivalent (LEVINE, 1965) permettant la liaison entre deux molécules d'IgE adjacentes. Des modifications de conformation de l'IgE peuvent également être induites par des antisérums anti-IgE (ISHIZAKA et ISHIZAKA et al. , 1968a).

c) La troisième étape correspond aux effets de médiateurs sur les cellules cibles. Les médiateurs libérés par les mastocytes activés conduisent au recrutement des protéines et des cellules circulantes pour assurer une défense locale vis-à-vis d'un agent étranger (AUSTEN et al. , 1976 ; WASSERMAN et GOETZL, 1976). Il s'agit de :

HISTAMINE	<ul style="list-style-type: none"> - Accroissement de la perméabilité vasculaire - Augmentation de l'AMP cyclique intracellulaire - Inhibition de la réaction de PCA (lapin) - Inhibition de la phagocytose et de la chemotaxie du neutrophile (homme) - Inhibition de la libération d'enzymes lysosomiaux par le neutrophile (homme) - Inhibition de la chemotaxie de l'éosinophile (hautes doses) (homme) - Augmentation de la migration de l'éosinophile - Inhibition de la cytotoxicité des cellules T (souris) - Inhibition de la production du MIF (cobaye) - Inhibition de la réaction cutanée retardée (cobaye) - Inhibition de la production et de la sécrétion des anticorps - Facilitation de la glomérulonéphrite immune (lapin)
ECF-A	- Action chémotactique sur l'éosinophile
NCF-A	- Action chémotactique sur le neutrophile
Héparine	- Action anticoagulante
SRS-A	<ul style="list-style-type: none"> - Accroissement de la perméabilité vasculaire - Contraction des bronchioles (homme)
PAF	<ul style="list-style-type: none"> - Agrégation plaquettaire - Libération de sérotonine plaquettaire



Actions des médiateurs mastocytaires (d'après AUSTEN, WASSERMAN et GOETZL, 1976 et LICHTENSTEIN, 1976)

- l'augmentation de la perméabilité vasculaire grâce à l'histamine, la sérotonine, la SRS-A et grâce à l'action du PAF (platelet activating factor) sur les plaquettes ;
- les modifications de la coagulation par l'héparine et le PAF ;
- l'attraction des éosinophiles par l'ECF-A et des neutrophiles.

2. Interaction de l'IgE et le macrophage

La mise en évidence d'une cellule-cible pour l'IgE autre que le mastocyte a été réalisé par CAPRON et al. (1975), dans la schistosomiase expérimentale du rat et dans la filariose expérimentale (HAQUE et al 1980). L'existence d'une activité cytotoxique de macrophages péritonéaux pour les schistosomules a été découverte en incubant des cellules péritonéales adhérentes de rats sains avec du sérum de rat infecté par le parasite et immun à la réinfection, l'addition dans un deuxième temps de schistosomules conduit à une adhérence et une cytotoxicité des macrophages vis-à-vis de schistosomules.

Les IgE responsables de ces phénomènes sont des IgE spécifiques du parasite, les IgE de spécificités différentes n'ont aucun effet.

D'autre part, une adsorption et une ultra-

centrifugation d'un immunosérum anti- S. mansoni a permis de montrer que les immuns complexes formés d'anticorps IgE anti- S. mansoni et d'antigènes parasitaires induisent une adhérence et une cytotoxicité du macrophage (CAPRON et al. , 1977).

3. Interaction de l'IgE et l'éosinophile

Le rôle des anticorps de classe IgE dans les mécanismes de cytotoxicité par éosinophiles a été démontré dans la schistosomiase expérimentale du rat (CAPRON et CAPRON, 1980). La participation de l'anticorps IgE dans le mécanisme de cytotoxicité de l'éosinophile a été démontrée par immunoadsorption et par les études d'inhibition, la description de ce mécanisme a conduit à l'identification de récepteurs spécifiques pour l'IgE au niveau de la membrane des éosinophiles de rat et des éosinophiles humains en utilisant la technique de rosette.

C. REGULATION DE LA REPONSE IgE

Rôle des lymphocytes B et T

La synthèse des anticorps IgE est thymodépendante. Les rats thymectomisés à la naissance ne produisent pas d'anticorps IgE (OKHUMURA et TADA, 1971). L'injection de thymocytes normaux corrige cette déficience (TANIGUCHI et TADA, 1974). Des IgE étant

synthétisées par les lymphocytes B, HAMOAKA et al. (1973b) et OKUDAIRA et ISHIZAKA (1973) ont montré l'importance de la coopération des cellules B et T à cet effet, car l'immunisation par la protéine porteuse ("carrier") augmente la réponse IgE ultérieure à un complexe "carrier"-haptène. Cet effet est conséquent à la participation des lymphocytes T spécifiques de la protéine porteuse.

Les lymphocytes B "mémoires" impliqués dans la réponse IgE sont différents des cellules B "mémoire" impliquées dans la réponse IgM et IgG (HISHIMOTO et ISHIZAKA, 1972 ; DELESSESSE et al. , 1975). La maturation des cellules souches en plasmocytes B productrices d'anticorps IgE se ferait grâce à la présence de l'antigène et d'une sous-population de cellules T (OKUDAIRA et ISHIZAKA, 1974 ; ISHIZAKA K., 1976).

Toutefois, de nombreuses expériences ont démontré l'existence de coopération des cellules T (T "helper") avec les cellules B pour la réponse IgE. Chez le lapin, les lymphocytes T helper de la réponse IgE sont différents des lymphocytes T helper de la réponse IgG (KISHIMOTO et ISHIZAKA, 1973). Cependant, chez les souris bonnes répondeuses en IgE, les lymphocytes T helper pour les réponses IgE et IgG ne peuvent être distingués (HAMOAKA et al. , 1973 ; OKUDAIRA et ISHIZAKA, 1973, 1974).

Cependant, la synthèse des IgE dirigés contre un antigène peut être supprimée par transfert passif d'un antisérum contenant des anticorps dirigés contre ce même antigène. C'est une suppression par les anticorps. Cette suppression est complète chez le lapin et transitoire chez la souris. Mais, chez les souris hautes répondeuses en IgE, l'injection d'un antisérum anti-ovalbumine n'affecte pas la réponse IgE en cours et n'inhibe pas une réponse secondaire (ISHIZAKA K. et OKUDAIRA, 1972). On observe les phénomènes différents chez le rat. L'injection d'anticorps déprime sélectivement la réponse IgE sans affecter la réponse IgG.

La suppression de la réponse IgE résulte aussi de l'effet des cellules T "suppressives" (OKUMURA et TADA, 1971 ; TANIGUCHI et TADA, 1974 ; OKUMURA et al. , 1974). TADA et al. (1973) ont mis en évidence dans les extraits de thymocytes ou de cellules spléniques, un composant d'activité suppressive sur la réponse IgE. Ce composant agit en inactivant les cellules T "helper" (TADA, 1976).

Dans certains cas, une protéine dénaturée induit une suppression spécifique de la réponse IgE à cet antigène. Cette possibilité pourrait être d'intérêt dans l'immunothérapie des allergies (ISHIZAKA, 1976).

Un autre facteur d'activité immunosuppressive (KISHIMOTO et ISHIZAKA, 1974) agirait sur les cellules

B avant leur stimulation par l'antigène ou au moment de leur stimulation. Ce facteur est synthétisé par les cellules B : "IgE-B-cell generating factor".

D. PRODUCTION DES IgE DANS LES HELMINTHIASES

Les helminthiases se caractérisent par la présence de taux élevés d'IgE sériques (JARRETT, 1972 ; KOJIMA et al. , 1972). L'existence de phénomènes d'hypersensibilité immédiate au cours de ces infections est connue depuis longtemps grâce à l'utilisation de la réponse cutanée immédiate à l'injection d'extraits du parasite.

Les réagines (IgE)spécifiques dirigés contre les antigènes ont été mises en évidence chez l'homme (ANDREWS, 1962 ; BLOCH, 1967) et chez l'animal : le lapin (HOGART-SCOTT, 1967a ; SADUN et al. , 1968), la souris (MOTA et Coll., 1969a), le cobaye (CATTY, 1969), le rat (OGILVIE, 1964).

L'augmentation des IgE a été démontrée dans de nombreuses infections parasitaires telles que : l'ascaridiose (JOHANSSON, MELLEIN et VAHLQUIST, 1968), le syndrome de Larva migrans (HOGARTH-SCOTT et al. , 1971), l'ankylostomiase (BENNICH et JOHANSSON, 1971 ; ITO-SAWADA et SATO, 1972 ; KOJIMA et al. , 1978) ; l'oxyurose (JARRETT et KERR, 1973), la bancroftose (NEVA et al. , 1975 et ITO et al. , 1972), la filario-

se à Brugia malayi (HUSSAIN et al. , 1981), l'Onchocercose (WEISS et al. , 1981). Parmi les infections par Trématodes : la distomatose à Fasciola hepatica (KOJIMA et al. , 1972), la bilharziose à S. japonicum (KOJIMA et al. , 1972), à S. mansoni (KELLERMEYER et al. ; 1973), à S. haematobium (WILKINS et BROWN, 1973) ; parmi les infections par cestodes : l'échinococcose (HULDT et al. , 1973 ; DESSAINT et al. , 1975).

Chez le rat, l'augmentation des IgE sériques a été étudiée au cours de l'infection par Trichinella spiralis (PERRUDET-BADOUX et al. , 1976) et par S. mansoni (ROUSSEAU-PREVOST et al. , 1978).

La réponse IgE des sujets infestés est consécutive à la présence de molécules d'allergènes produites par l'helminthe, les anticorps IgE dirigés contre le parasite ne représentent en fait qu'une faible part des IgE totales (DESSAINT et al. , 1975).

E. METHODES ACTUELLES DE DOSAGE DES IgE

Le dosage des IgE nécessite des techniques très sensibles en raison du taux faible de cette classe d'immunoglobuline dans le sérum ou autre liquide biologique. Ces techniques sont classées en deux groupes :

- les méthodes immunochimiques qui utilisent le caractère antigénique de l'IgE et qui permettent le dosage des IgE totales d'un liquide biologique ou des IgE

spécifiques d'un antigène donné ;

- les méthodes biologiques qui recherchent l'activité réaginique d'un liquide biologique vis-à-vis d'antigènes déterminés.

Les méthodes couramment utilisées sont :

1. Méthodes immunochimiques

a) Dosage des IgE totales circulantes

La partie constante Fc de l'IgE réagit avec un anti-sérum anti- dirigé contre les déterminants isotypiques de la molécule.

- Immunodiffusion en milieu gélifié :

La méthode d'immunodiffusion radiale de MANCINI est insuffisamment sensible pour le dosage des IgE. Les anneaux de précipitation ne sont pas visibles. Les modifications proposées ont augmenté la sensibilité :

. La méthode de ROWE (1969) ou radioimmunodiffusion radiale, utilise les anticorps anti-IgE marqués à ^{125}I (ces anticorps sont dirigés contre l'IgE de l'espèce qui a servi à la préparation de l'anti-IgE). La fixation de ces anticorps est révélée par autoradiographie. ARBESMAN et ITO (1971) ont simplifié la méthode en utilisant un anti-IgE marqué à ^{125}I ;

. CENTIFANTO et KAUFMAN (1971), pour révéler l'anneau de diffusion, utilisent un anti-immunoglobuline marquée à la fluorescéine ;

. GUESDON, THIERY et AVRAMEAS (1976) ont décrit récemment une technique de révélation utilisant des anticorps marqués à la glucose oxydase. Cette technique sensible permet d'obtenir des résultats reproductibles en accord avec les dosages radioimmunologiques.

- Méthodes radioimmunologiques :

Du fait de leur sensibilité, les méthodes radioimmunologiques sont les méthodes de choix pour le dosage de l'IgE. Leur principe consiste à mettre en compétition l'IgE radiomarquée et l'IgE froide (non marquée) pour un immunsérum (anti-IgE) dirigé spécifiquement contre cette IgE, de telle façon qu'il existe un excès d'IgE marquée et non marquée, après contact avec l'immunsérum.



La quantité d'IgE marquée fixée par l'anticorps sera d'autant moins grande que la quantité d'IgE froide sera importante. Avant la mesure de la radioactivité, il est nécessaire de séparer les fractions liées à l'anticorps et les fractions libres. La mesure de la radioactivité avec des quantités connues d'IgE froide permet d'établir une courbe d'étalonnage. La quantité d'IgE à doser peut être déduite de cette courbe d'étalonnage.

L'IgE purifiée est marquée à l' ^{125}I par la méthode de GREENWOOD, HUNTER et GLOVER (1963), McCONAHEY et DIXON (1966) en utilisant la chloramine T comme oxydant doux ; cette méthode minimise les risques de dénaturation de l'IgE, donc la perte de l'antigénicité. L'anti-IgE est obtenu par immunisation, soit avec des Fc (JOHANSSON, MELLBIN et VAHLQUIST, 1968), soit avec l'IgE entière.

La séparation des fractions libres et des fractions liées à l'anticorps est réalisée soit par couplage de l'anticorps à la phase solide, soit par précipitation du complexe IgE - anti-IgE :

. le couplage à une phase solide (Radioimmunosorbent test ou R.I.S.T.) a été initialement décrit par

JOHANSON, BENNICH et WIDE (1968) ; le Séphadex servant de support solide est activé par le bromure de cyano-gène (WIDE, AXEN et PORATH, 1967 ; WIDE, 1969).

. la précipitation du complexe IgE - anti-IgE peut être obtenue à l'aide d'un deuxième anticorps dirigé contre les immunoglobulines de l'espèce ayant servi à produire l'anti-IgE (méthode du double anticorps) (GLEICH, AVERBECK et SWEDLUND, 1971). Une autre méthode consiste à précipiter les complexes IgE - anti-IgE par le sulfate d'ammonium à 33 % de saturation. Dans ces conditions l'IgE non liée reste soluble (CARSON, METZGER et BAZIN, 1975).

b) Méthodes de dosage des IgE spécifiques d'un antigène

Les techniques employées consistent à insolubiliser d'abord l'antigène puis à adsorber les anticorps du sérum avec cet antigène insolubilisé et ensuite à estimer la quantité d'IgE adsorbé sur l'antigène.

Radioallergosorbent test (RAST)

Cette méthode, décrite par WIDE, BENNICH et JOHANSSON (1967) permet de doser spécifiquement les anticorps IgE. L'antigène (ou allergène) est couplé à une phase solide (radioallergosorbent test : RAST). Lors de la première incubation, les anticorps de type IgE, contenus dans le sérum à doser, se combinent à l'antigène. Après lavage de la phase solide, des anticorps anti-IgE marqués à l' ^{125}I sont additionnés. La radioactivité liée à la phase solide après lavage est proportionnelle à la quantité d'anticorps IgE spécifiques de l'allergène.

L'allergène est couplé à des particules de Séphadex (Wide, Axen et Porath, 1967) ou à des disques de papier filtre de cellulose activées par le bromure de cyanogène (CESKA, ERIKSON et VARGA, 1972).

Idem avec la méthode enzymatique où l'anti-IgE est marquée à la phosphatase alcaline ou à la -galactosidase.

. Méthodes utilisant l'isolement puis le dosage des IgE spécifiques d'un antigène

Il s'agit d'adapter la méthode du RIST (qui mesure la quantité d'IgE totales) à la détermination des anticorps IgE spécifiques (Mc LAUGHLAN, 1971). On réalise une absorption préliminaire avec l'allergène couplé à un immunoabsorbant. Employant cette technique, DESSAINT et al. (1975a,b) mesurent pour la première fois la concentration d'IgE spécifiques de parasite dans des sérums humains. Les immunoabsorbants sont réalisés avec une préparation antigénique de S. mansoni ou de l'antigène 5 spécifique de Echinococcus granulosus. Après élution, les IgE spécifiques sont dosées par méthode radioimmunologique (RIST : Pharmacia, Uppsala, Sweden).

2. Méthodes biologiques

Les méthodes biologiques sont employées pour la détermination des IgE spécifiques d'un antigène. Elles apprécient l'activité réaginique d'un sérum. On déclenche la réaction anaphylactique par contact avec l'antigène spécifique.

a) Anaphylaxie cutanée passive (PCA : passive cutaneous anaphylaxis)

Cette technique consiste à injecter intradermiquement dans la peau rasée d'un animal normal rece-

veur, un petit volume (0,1 ml chez le rat, par exemple) de dilution dans de l'eau physiologique du sérum à étudier. Après un temps de latence (en général, 48 à 72 heures), l'animal reçoit l'antigène mélangé à une solution de bleu d'Evans par voie intraveineuse. Dans les sites où une réaction anaphylactique a lieu, des modifications de la perméabilité capillaire se produisent et il apparaît alors une tache bleue en zone d'injection du sérum. Le diamètre de la tache est fonction de la quantité d'anticorps réaginaires injectés. Certains auteurs mesurent le diamètre et quantifient les résultats en conséquence ; d'autres préfèrent indiquer la plus grande dilution capable d'induire une réaction positive. Les réaginaires étant des anticorps homocytotropes, leur mise en évidence par transfert cutané passif se fait uniquement entre individus d'une même espèce. C'est pourquoi, dans le test de PCA, l'animal receveur est de la même espèce que celle fournissant le sérum à tester. Cependant, des sensibilisations hétérologues sont possibles dans certains cas. Ainsi, la réaginaire humaine peut sensibiliser le singe (PATTERSON, 1969), la souris et le rat peuvent être sensibilisés avec les IgE de l'une ou l'autre espèce (MOTA et al. , 1969b ; PROUVOST-DANON et al. , 1975). Il s'agit de sensibilisation croisée entre espèces animales très proches.

Le terme PCA est limité aux tests pratiqués chez les animaux. Chez l'homme, il s'agit de la réaction de PRAUSNITZ-KUSTNER ou PK test. Le risque élevé de contamination, essentiellement par le virus de l'hépatite a fait rejeter l'utilisation pratique de ce test.

b) Sensibilisation des cellules in vitro

Les interactions entre les IgE et les cellules peuvent être étudiées directement. Chez l'homme, on emploie des leucocytes sanguins (LICHTENSTEIN et OSLER, 1964 ; OSLER et al. , 1968). Après addition de l'antigène spécifique, il y a dégranulation des basophiles et libération d'histamine qui est mesurée par des méthodes biologiques ou chimiques. Cette technique est moins sensible que le test PK (STANWORTH, 1973).

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

A. MATERIELS

1. Les antigènes

Les vers récoltés sont au préalable lavés afin d'éliminer les contaminants sériques provenant de l'hôte.

- Antigène O. volvulus : les vers adultes sont extraits des onchocercomes prélevés après nodulectomie sur des malades onchocerciens vivant en zone endémique. Les vers subissent plusieurs lavages dans une solution de NaCl à 1 % afin d'être débarrassés au maximum des contaminants humains, l'extraction de l'antigène se fait selon le protocole décrit par CAPRON et al. (1965).

Les vers mis dans du NaCl 1 % sont congelés à -20°C dans un mortier en porcelaine et ensuite broyés manuellement au pilon jusqu'à liquéfaction presque totale. Il est ainsi procédé à 5 broyages au mortier glace. Après le dernier broyage, la solution est centrifugée pendant 1 heure à 4°C. Le surnageant est dialysé 20 heures environ contre de l'eau déminéralisée. L'extrait antigénique hydrosoluble est lyophilisé dans des flacons type plasma de 500 ml à large ouverture.

Sont préparés d'une manière similaire :

- de l'antigène D. viteae

- de l'antigène S. mansoni
- de l'antigène A. lumbricoïdes .

Le broyage au lieu d'être effectué manuellement dans un mortier, peut être réalisé par 5 passages à l'X-Press LKB. Ceci permet d'avoir une meilleure désintégration de l'intégrité de la structure des tissus et des cellules. Pour cela, on exerce sur les vers congelés à -20°C une pression de 10 à 12 tonnes.

La première eau de lavage des vers adultes d' O. volvulus possède des propriétés antigéniques, de ce fait elle est dialysée, lyophilisée et constitue l'antigène "eau de lavage" qui pourra servir aussi au diagnostic.

2. Les sérums

a) Les sérums de malades

Les sérums onchocerquiens sont prélevés sur des sujets originaires du Cameroun, du Mali et du Vénézuéla, zones de haute endémie onchocerquienne. Ces sujets sont des onchocerquiens confirmés par les signes cliniques et parasitologiques : recherche des microfilaires dermiques d' Onchocerca volvulus (OV) positive. Les sérums prélevés sont stockés à -20°C.

Afin d'étudier la spécificité de nos tests, nous avons utilisé des sérums de patients infectés par

d'autres filaires humaines (SPF) en l'occurrence :
Wuchereria bancrofti (W.b.), Loa loa (L.l.) et
Brugia malayi (B.m.) ; ou par d'autres helminthes
 (SPH) tels que Schistosoma mansoni , Fasciola hepatica
 et Ascaris lumbricoïdes .

Les sérums des sujets normaux (SHN) ont été
 prélevés chez des européens et chez des sujets origi-
 naires des zones endémiques pour lesquels les examens
 parasitologiques et sérologiques pour la recherche
 d'helminthiase ont été négatifs.

b) Les immunsérums

Les lapins sont immunisés à partir d'extraits
 antigéniques solubles de vers adultes par deux techni-
 ques d'immunisation : la méthode de VAITUKAITIS et la
 méthode par voie sous-scapulaire (détails des techni-
 ques, cf. Fin).

3. Les urines

Les urines sont celles de patients onchocer-
 quiens confirmés vivant en zone endémique. Recueillies
 et centrifugées, elles sont filtrées sur des filtres
 Millipore afin de les débarrasser de microfilaires qui
 pourraient s'y trouver. Elles sont ensuite réparties
 dans des tubes à hémolyse et congelées à -20°C.

4. Les immunoglobulines (Ig)

Les Immunoglobulines sont obtenues après 3 précipitations successives au sulfate d'ammonium à 33 % des sérums de malades d'une part et des immunsérums de lapin d'autre part.

Une partie de ces Ig est marquée à $1,125\text{I}$ (cf. Fin) et conservée en tampon phosphate contenant 1 % de sérumalbumine humaine (ou bovine) pour éviter une radiolyse, et 0,02 % d'azide de sodium (NaN_3) qui est un antiseptique.

B. TECHNIQUES

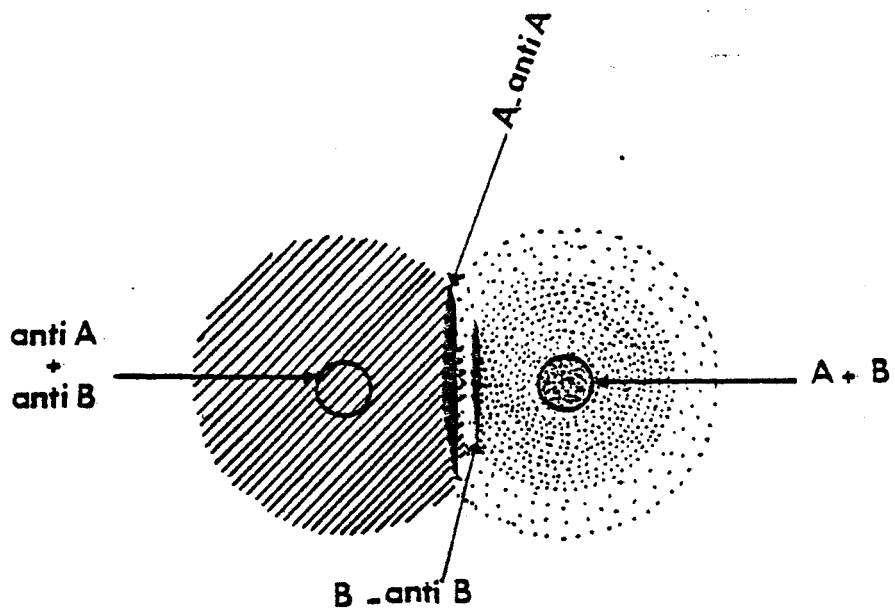
Les techniques immunologiques de base de notre travail sont : les techniques d'immunoprécipitation en gel (double diffusion d'Ouchterlony : DDO, l'immuno-électrophorèse : IEP) et les techniques radioimmunologiques (Radioimmunoprecipitation-PEG assay : RIPEGA et Sandwich Radioimmunoassay : SRIA). Les détails de toutes ces techniques sont à la fin.

1. Immunoprécipitation en gel

a) Double diffusion en gel (D.D.G.)

La double diffusion décrite par OUCHTERLONY (1958) et modifiée par ABELEV (1960) consiste en la diffusion de l'antigène et de l'antisérum, l'un vers l'autre dans le gel d'agarose. Au point d'équivalence, chaque composant antigénique se complexe à l'anticorps

correspondant pour former un précipité insoluble blanchâtre sous l'aspect d'une ligne.



BIS
LILLE

Principe de double diffusion en gel,
méthode d'Ouchterlony.



diffusion des antigènes



diffusion des anticorps

b) Immunoélectrophorèse (GRABAR et WILLIAMS, 1953 ; SCHEIDEGGER, 1955 ; GRABAR et BURTON, 1960).

Cette technique fait appel à deux propriétés distinctes d'un composant antigénique à savoir d'une part sa mobilité électrophorétique, et d'autre part son antigénicité.

Après électrophorèse de l'antigène qui permet la séparation des différents composants selon leur charge électrique et leur poids moléculaire, on passe à l'étape de la diffusion de l'antigène et de l'anticorps qui, au point d'équivalence, forment des arcs de précipitation. La diffusion dure 48 heures (24 heures à la température du laboratoire et 24 heures à 4°C).

Ensuite, les lames lavées et déminéralisées sont colorées au noir d'amido (amido Schwartz). Ce produit a la propriété de révéler les arcs de précipitation.

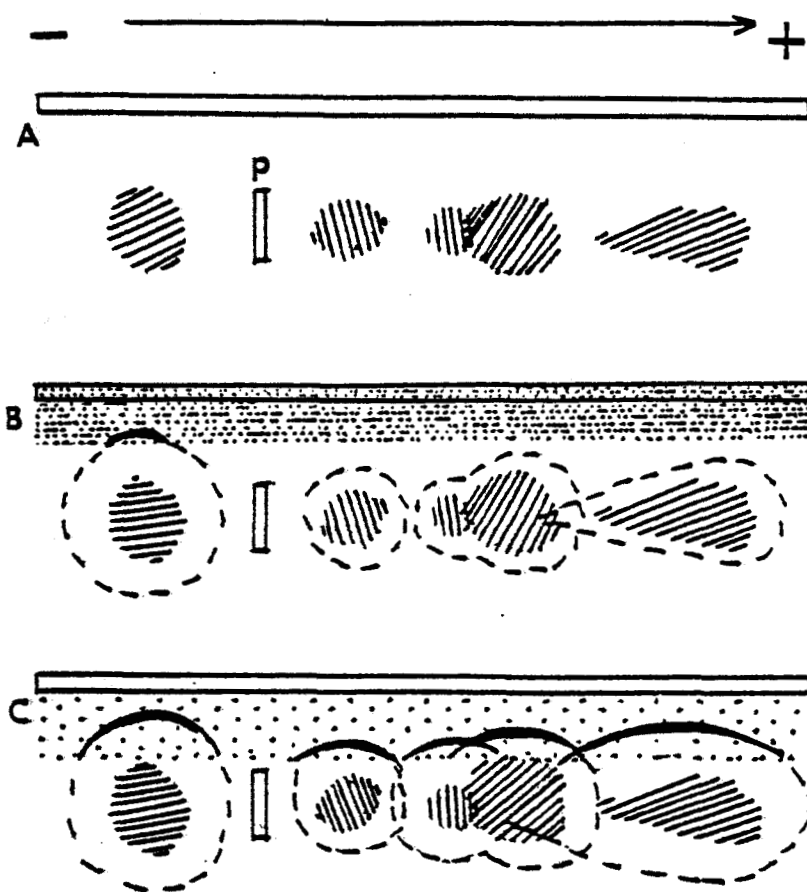


Fig. 2 : Diagramme schématique du principe de l'immunoélectrophorèse.

A - L'extrait antigénique à analyser est déposé dans le puits P

B - L'immunsérum est déposé dans une fente F parallèle à l'axe de migration

C - Les anticorps et les antigènes diffusent dans le gel, réagissent et forment des arcs de précipitation spécifiques.

2. Radioimmunoélectrophorèse

Décrite par YAGI et al. (1962), la radioimmunoélectrophorèse a été utilisée pour la mise en évidence des anticorps anti-insuline dans le sérum de cobaye et pour l'identification d'allergènes dans les extraits solubles de pollen (WEEKE et LOWENSTEIN, 1973) et récemment pour la caractérisation des allergènes de S. mansoni, Fasciola hepatica et Echinococcus granulosis (BOUT et al., 1977).

L'immunoélectrophorèse est réalisée comme précédemment, mais après 48 h de diffusion et 3 lavages des lames dans une solution de NaCl 9 % , on dépose sur le gel 0,3 ml de sérum de malade riche en IgE spécifiques. L'incubation à la température du laboratoire dure une nuit, les lames relavées sont mises en contact une nuit avec un anti-IgE humaine marquée à ^{125}I . Après de nouveaux lavages, suivis de déminéralisation, l'autoradiographie est réalisée avec un film Kodinex (Kodak, Sevrans, France). La présence d'un allergène se traduit par la révélation sur le film d'un des nouveaux arcs de précipitation que montre la coloration au noir d'amido.

Chaque expérience a été répétée 3 fois avec un sérum de patient différent.

3. RIPEGA (Radioimmunoprecipitation-PEG-assay)

Proposée par CREIGHTON et al. (1973) et LAMBERT et al. (1974), cette méthode a été modifiée et mise au point dans notre laboratoire par SANTORO et al. (1977b). Son application a été surtout basée sur la détection des antigènes et/ou des anticorps présents dans le sérum des malades et parfois la détection des immuns complexes dans le liquide biologique. Pour la réalisation de cette technique, il est nécessaire d'avoir, à la fois des antigènes ou des fractions antigéniques purifiées, spécifiques d'une maladie et ses anticorps correspondants purifiés par immunoadsorption ou par précipitation au sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 33 % de saturation.

Nous avons utilisé des anticorps de lapin anti- O. volvulus total marqués à l'iode ^{125}I

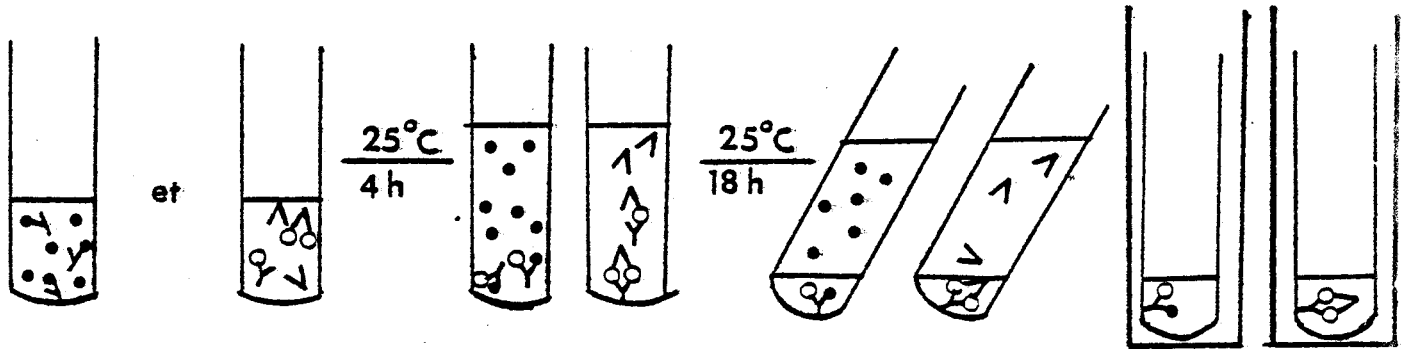
Au sérum de malade on ajoute des anticorps spécifiques marqués à ^{125}I . Ils se forment des complexes antigène-anticorps que l'on précipite au PEG. On mesure ensuite la radioactivité du culot de précipitation après centrifugation.

Tous les tests sont faits en triplicate. Il est nécessaire de tester plusieurs témoins négatifs, les expériences ont été renouvelées 3 fois.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de précipitation de l'anticorps marqués obtenus à partir d'un contrôle de radioactivité totale pour ces compo-

sants radiomarqués, à l'aide d'une précipitation à l'acide trichloroacétique (TCA) à 20 %.

<p>Echantillon (0,2 ml au 1/5^e) + $Ag-^{125}I$ (0,2 ml, 10000 cpm)</p>	<p>PEG 7% (3ml)</p>	<p>centrifugation 15000 g 20 mn 4°C (2 fois)</p>	<p>mesure de la radioactivité du précipité</p>
---	----------------------------------	---	--



Y immuns complexes; \bullet $Ag-^{125}I$; V $Ac-^{125}I$; \ominus précipités

Principe du RIPEGA



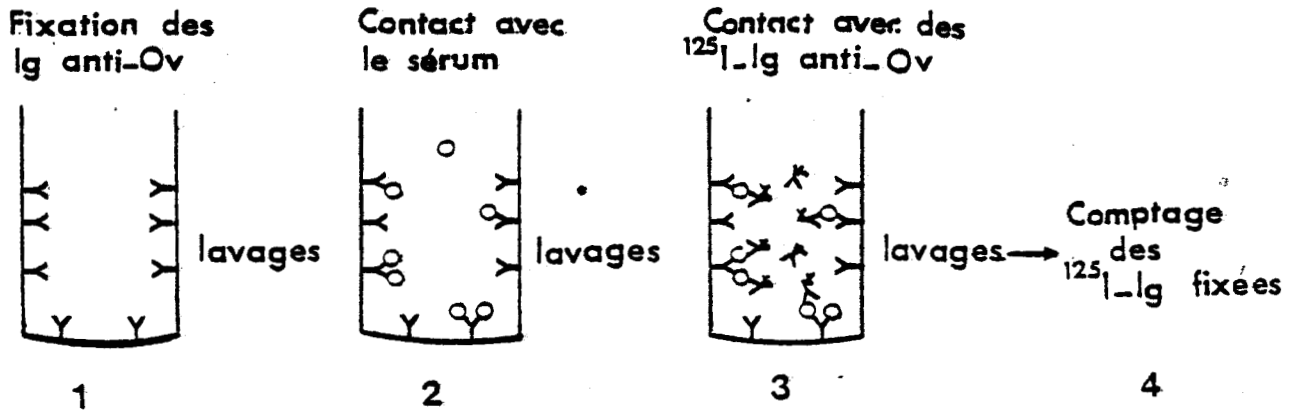
4 - Sandwich Radioimmunoassay : SRIA (CARLIER et al. , 1980)

Cette technique a été utilisée pour le dosage des antigènes circulants dans les sérums de bilharziens infestés par S. mansoni .

Les antigènes circulants présents dans les sérums de malades se lient aux anticorps de lapin anti-O. volvulus fixés sur les parois des tubes de polystyrène. Les antigènes circulants complexés sont révélés par le même anticorps que le premier mais marqué à ^{125}I . On mesure alors la radioactivité des complexes formés. Les résultats sont exprimés en pourcentage de radioactivité :

$$\frac{B - B_0}{B_{10} - B_0}$$

B, B₀ et B₁₀ représentent la radioactivité (cpm) obtenue respectivement pour le sérum à tester, les sérums de sujets normaux et 10 ug d'extrait antigénique d' O. volvulus . Les tests sont faits en triplicate et les expériences sont répétées 3 fois.



Principe du SRIA

Y anticorps de lapin anti- O. volvulus

O antigène circulant

*Y anticorps de lapin anti- O. volvulus marqué à ^{125}I

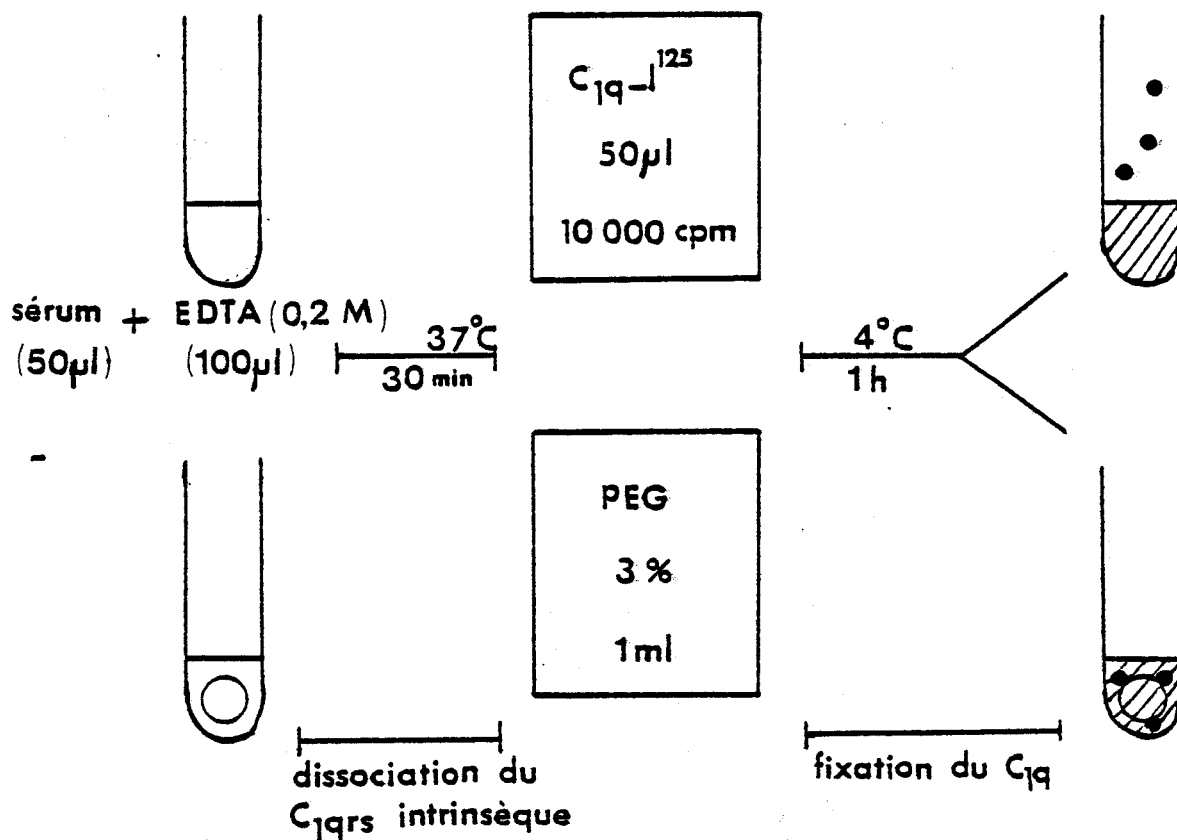
5. Test de liaison au C_{1q} - ^{125}I

Le test de liaison au C_{1q} - ^{125}I est utilisé selon ZUBLER et LAMBERT (1976).

Le C_{1q} est purifié à partir d'un sérum humain frais suivant la méthode décrite par VOLANAKIS et STROUD (1972) et modifié par ZUBLER et LAMBERT (1976) et marqué à ^{125}I .

Le test consiste à mélanger au sérum natif préalablement décomplémenté un volume égal de C_{1q} - ^{125}I . Les complexes antigène-anticorps- C_{1q} - ^{125}I formés sont précipités au PEG 3 % et la radioactivité du culot obtenu après centrifugation est comptée.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de C_{1q} - ^{125}I précipité dans les sérums natifs comparés aux témoins de radioactivité totale obtenue avec le TCA



○ immuns complexes

● $\text{C}_{1q}\text{-}^{125}\text{I}$

Principe du test de liaison au C_{1q}

6. RIST (Radioimmunosorbent-Test)

Cette méthode est utilisée pour le dosage des IgE totales dans le sérum.

Principe : le dosage est fondé sur la compétition existant entre les IgE du sérum à doser et une quantité déterminée d'IgE marquées à l' ^{125}I pour les IgG anti-IgE en quantité insuffisante. Pour un nombre déterminé de sites anticorps, il se fixera d'autant plus d'IgE marquées qu'il y a moins d'IgE froides et inversement. La quantité d'IgE radioactives restées libres est directement proportionnelle à la quantité d'IgE présentes dans le sérum à doser. La séparation par les anticorps en phase solide permet d'éliminer les IgE marquées non fixées.

Les résultats exprimés en unités internationales par millimètre (UI/ml) sont déterminés à partir de la courbe étalon.

7. Radioallergosorbent test (R.A.S.T.)

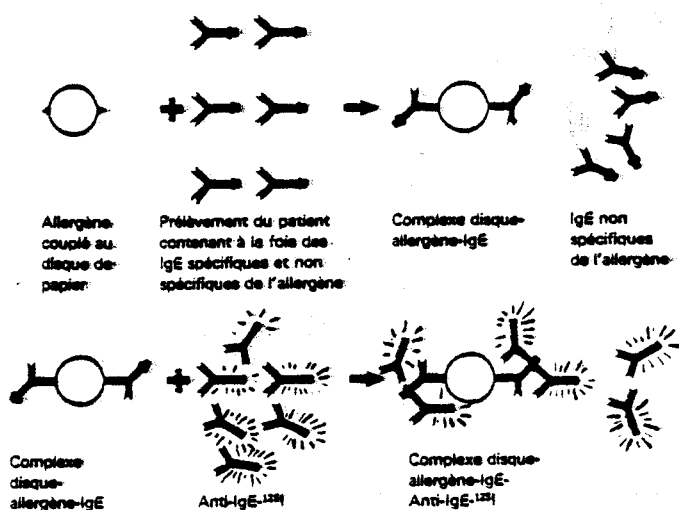
Le RAST décrit par WIDE, BENNICH et JOHANSSON (1967) permet de déterminer le taux d'IgE circulantes spécifiques d'un allergène dans les prélèvements de sang.

Principe : l'allergène, préalablement couplé par une liaison (Bromure de cyanogène) à un disque de pa-

pier Whatman N°1, réagit avec l'IgE spécifique contenue dans le prélèvement de sang du malade. Après avoir éliminé les IgE non spécifiques par lavage, on ajoute les anti-IgE marquées, de manière à former un complexe. L'excès d'anti-IgE marquée non complexée est éliminé par lavage. La radioactivité de ce complexe se mesure au compteur gamma. Plus le taux de radioactivité trouvé est élevé, plus la quantité d'IgE spécifiques du sérum à doser est élevée. Les résultats sont exprimés en pourcentage de Bmax(% Bmax).

$$\% \text{ Bmax} = \frac{\text{No cpm bound}}{\text{B max}}$$

B max est la radioactivité totale contenue dans les tubes "contrôle".



8. L'immunoabsorption

.. Les extraits solubles de O. volvulus et de D. viteae sont fixés séparément à du Séphadex 4B activé au bromure de cyanogène (Pharmacia, Uppsala, Sweden) selon le protocole initialement décrit par AXEN et al (1967) (préparation de l'immunoabsorbant ; cf. Fin).

L'immunoabsorbant ainsi préparé et mis en contact avec le sérum, fixe les anticorps spécifiques. Dans notre étude, nous nous intéressons aux IgE spécifiques.

Le taux des IgE spécifiques est mesuré avant et après adsorption.

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

A. DETECTION DES ANTIGENES CIRCULANTS1. Par des réactions de précipitation en gel

Trente et un pour cent des sérums onchocerquiens présentent un arc de précipitation lorsqu'ils diffusent contre un hyperimmunsérum de lapin anti-Onchocerca volvulus préalablement absorbé avec du sérum humain normal (Fig. 1). L'immunoélectrophorèse révèle un ou deux arcs de précipitation, un arc majeur est localisé dans la région cathodique.

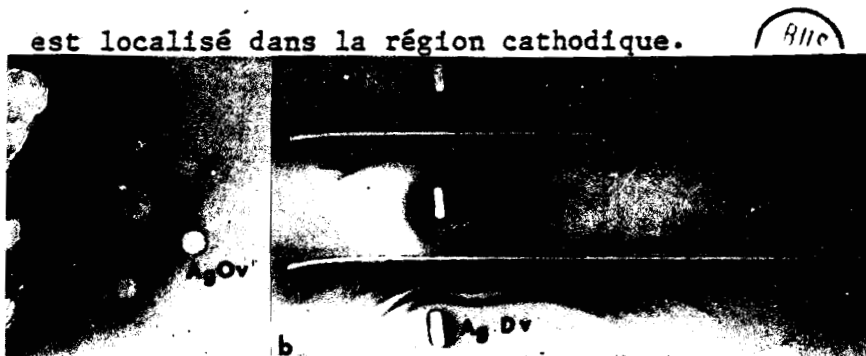


Fig. 1a : Immunodiffusion montrant la présence d'antigène circulant O. volvulus dans les sérums de malades onchocerquiens (S.P.O₁ ; S.P.O₂). Hyperimmunsérums de lapin anti-O. volvulus (HIS. O.v.) ; sérums humains normaux (1, 2, 3) ; antigènes solubles d' O. volvulus (Ag. O.v.).

Fig. 1b : Immunoélectrophorèse montrant la présence dans les sérums de patients onchocerquiens (S.P.O.) ; d'un antigène circulant (A.C.O.) majeur localisé dans la région cathodique. Sérum humain normal (S.H.N.), hyperimmun-

sérum anti- Dipetalonema viteae (H.I.S. D.v.) ; antigènes solubles de Dipetalonema viteae (Ag D.v.).

La spécificité parasitaire de ces antigènes circulants est démontrée par deux méthodes (Fig. 2) :

- Directement, par une réaction d'identité avec un composant antigénique contenu dans l'extrait total d' Onchocerca volvulus (Fig. 2a) ;
- Indirectement, en utilisant des hyperimmunsérums de lapin obtenus après immunisation par des extraits antigéniques d'autres helminthes (Fig. 2b)

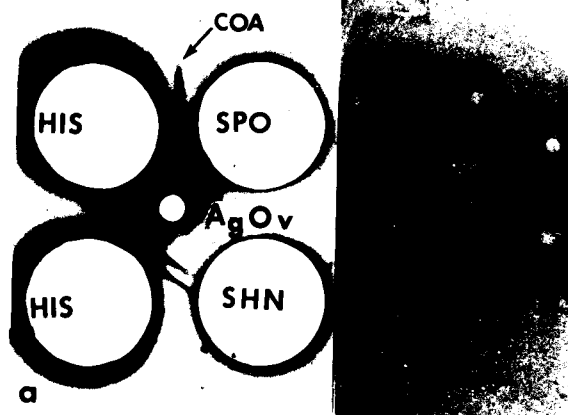


Fig. 2a : Immunodiffusion montrant une réaction d'identité entre l'antigène circulant (A.C.O.) et un composant soluble d' Onchocerca volvulus (Ag O.v.) ;

Fig. 2b : Seul, l'hyperimmunsérum (H.I.S.) anti- O. volvulus (1,2) peut mettre en évidence l'antigène circulant ACO dans le sérum de patient onchocerquien (SPO) ; HIS, anti- D. viteae (3), anti- S. mansoni (4) ; anti- A. lumbricoïdes (5), anti- F. hepatica (6).

Par la deuxième approche, seul l'HIS anti-Onchocerca volvulus peut détecter les antigènes circulants dans les sérums de patients onchocerquiens. Néanmoins, lorsque des sérums de patients infectés par d'autres filaires (Wuchereria bancrofti , Loa loa , Brugia malayi) sont diffusés contre un HIS anti- O. volvulus , on observe un ou deux arcs de précipitation dans certains cas. Cependant, il n'existe aucune réaction d'identité entre ces deux systèmes précipitants et l'arc majeur observé avec les sérums de patients onchocerquiens (Fig. 3).

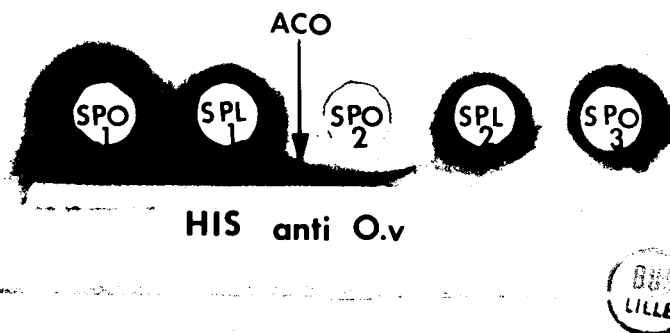


Fig. 3 : Immunodiffusion montrant l'absence de réaction d'identité entre l'antigène circulant majeur (ACO) détecté dans le sérum de malade onchocerquien (S.P.O.) et les arcs de précipitation mis en évidence dans le sérum de malade atteint de Loase (S.P.L.) par un H.I.S. anti- O. volvulus .

2. Détection des antigènes circulants par le RIPEGA

Les mêmes sérums testés par immunodiffusion et immunoélectrophorèse ont été de nouveau analysés par la technique du RIPEGA. La Figure 4a montre que les sé-

rums onchocerquiens ont un taux élevé d'antigènes circulants représenté par le pourcentage d'anticorps anti-Onchocerca volvulus précipités ($m = 29,52 \%$; $\sigma = 11,46$). Les sérums positifs sont ceux qui ont un pourcentage d'anticorps précipités supérieur à 2 fois l'écart-type de la moyenne du taux d'anticorps précipités dans les SHN. Il existe une différence hautement significative entre la moyenne des taux d'antigènes circulants observés dans les sérums de sujets onchocerquiens (SPO) et ceux obtenus pour les sujets normaux (SN) ($m = 10,65 \%$; $\sigma = 2,11$; $P \leq 0,001$). Par contre, il n'existe aucune différence significative entre les taux observés chez les sujets infectés par d'autres helminthes (SPH) ($m = 11,88 \%$; $\sigma = 3,23$) et ceux obtenus pour les sujets sains. Cependant, lorsque les sérums de patients infectés par d'autres filaires (W. bancrofti , Loa loa et B. malayi) sont testés par cette technique, on observe une augmentation d'anticorps anti-O. volvulus précipités (Fig. 4b) ($P \leq 0,01$). Ces valeurs sont différentes de celles obtenues pour les sujets normaux ($P \leq 0,001$).

Le parallélisme des courbes de dilution des différents sérums est en faveur de l'application du RIPEGA au dosage des antigènes circulants dans les sérums des sujets onchocerquiens (Fig. 5).

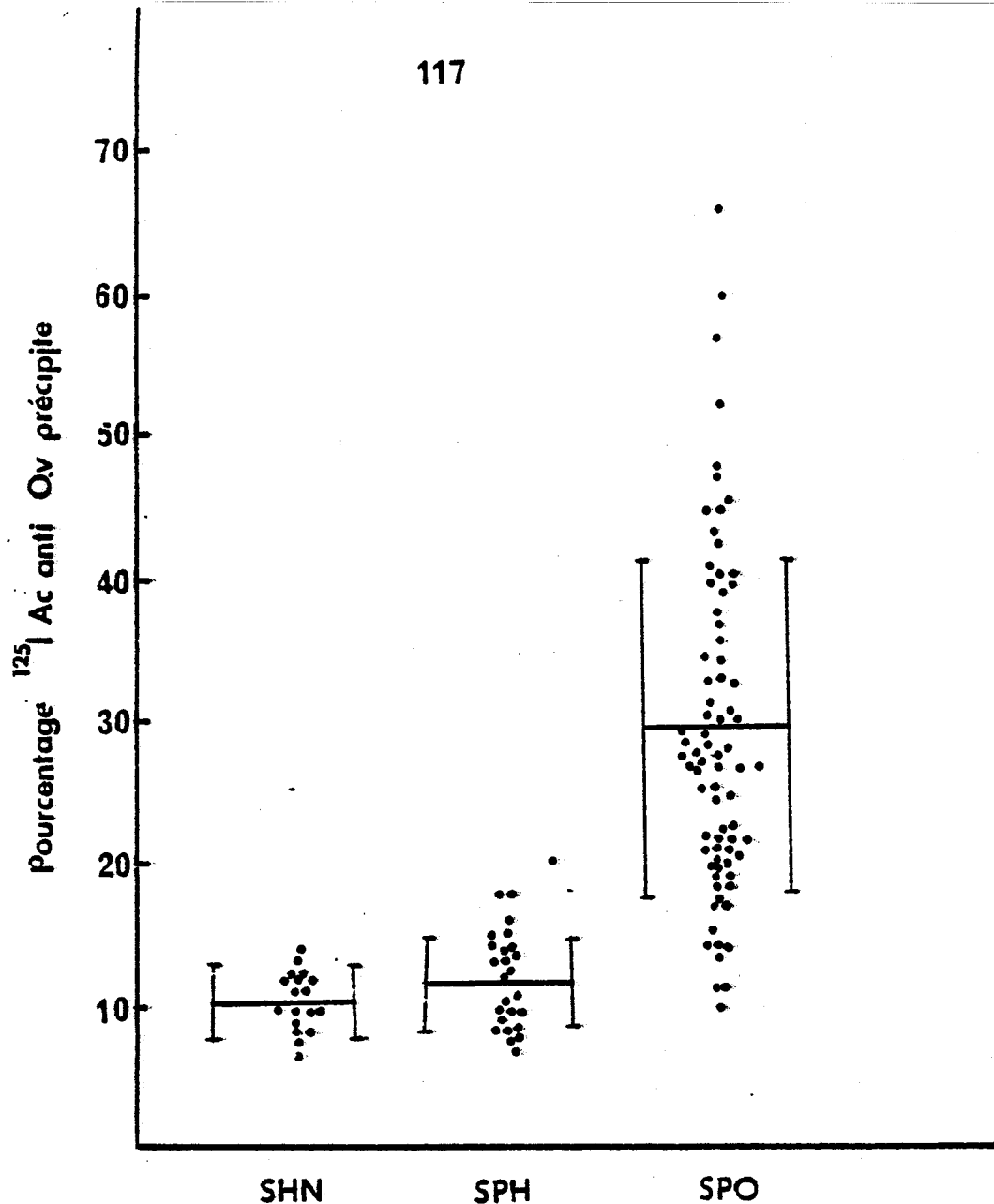


Fig. 4a : Détection des antigènes circulants par la technique du RIPEGA. Sérums de patients onchocerquiens (S.P.O.) ; sérums humains normaux (S.N.) ; sérums de patients infectés par d'autres helminthes (S.P.H.).

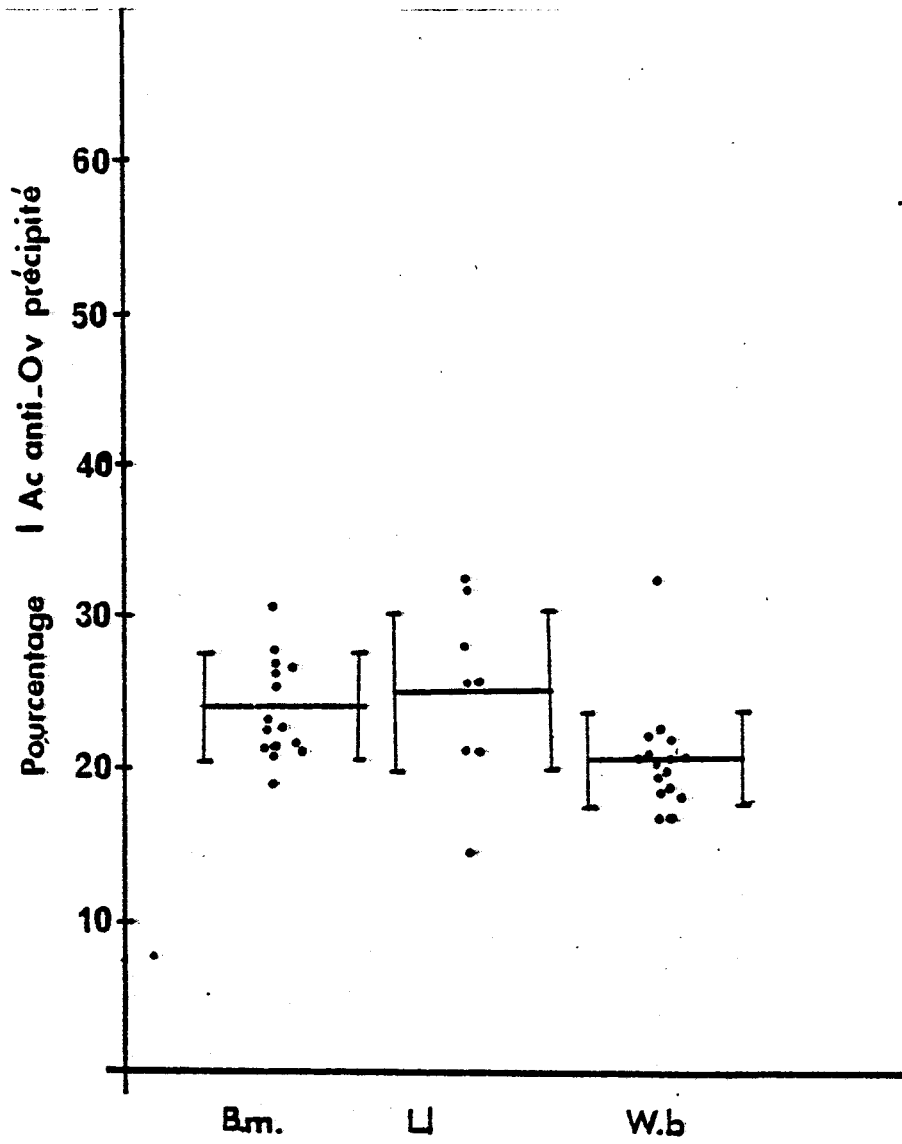


Fig. 4b : Détection des antigènes circulants par la technique du RIPEGA. Sérums de patients infectés par W. bancrofti (W.b.) ; Loa loa (L.I.) et Brugia malayi (B.m.).

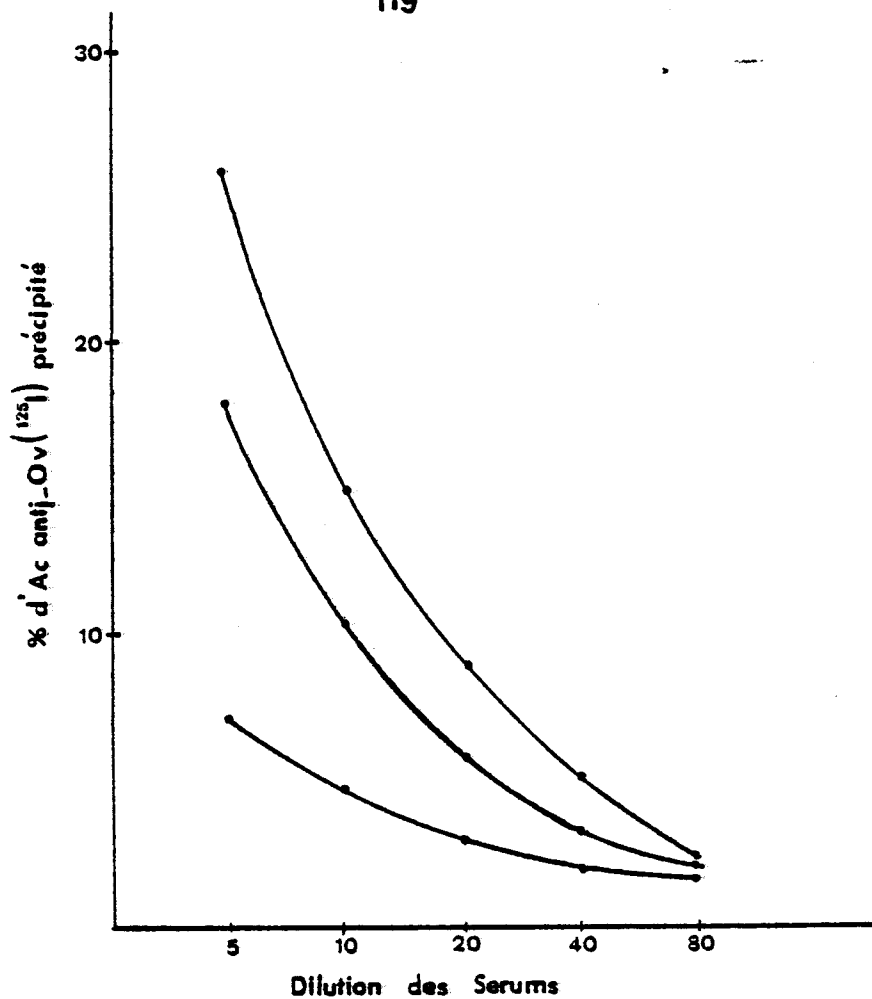


Fig. 5 : RIPEGA avec différentes dilutions des sérums de patients onchocerquiens

Le parallélisme des courbes justifie l'affinité de la liaison ACO-anticorps spécifique et l'application du RIPEGA à la détection des antigènes circulants dans l'onchocercose.

3. Détection des antigènes circulants par S.R.I.A.

86 % de sérums d'onchocerquiens testés par cette technique ont un taux élevé d'antigènes circulants (Fig. 6a). La spécificité de ce test est examinée en utilisant à la fois des sérums de patients infectés par d'autres helminthes et l'on observe que dans les deux cas, le taux de réactions croisées est inférieur à 15 %. Les sérums positifs sont ceux qui ont un taux d'antigènes circulants supérieur à 2 fois l'écart type de la moyenne de celui obtenu pour les sujets non filariens.

En outre, les tests effectués avec différents antigènes parasitaires (O. volvulus , F. hepatica , S. mansoni , D. viteae , A. lumbricoïdes) constituent une deuxième approche démontrant la spécificité du SRIA (Fig. 6b).

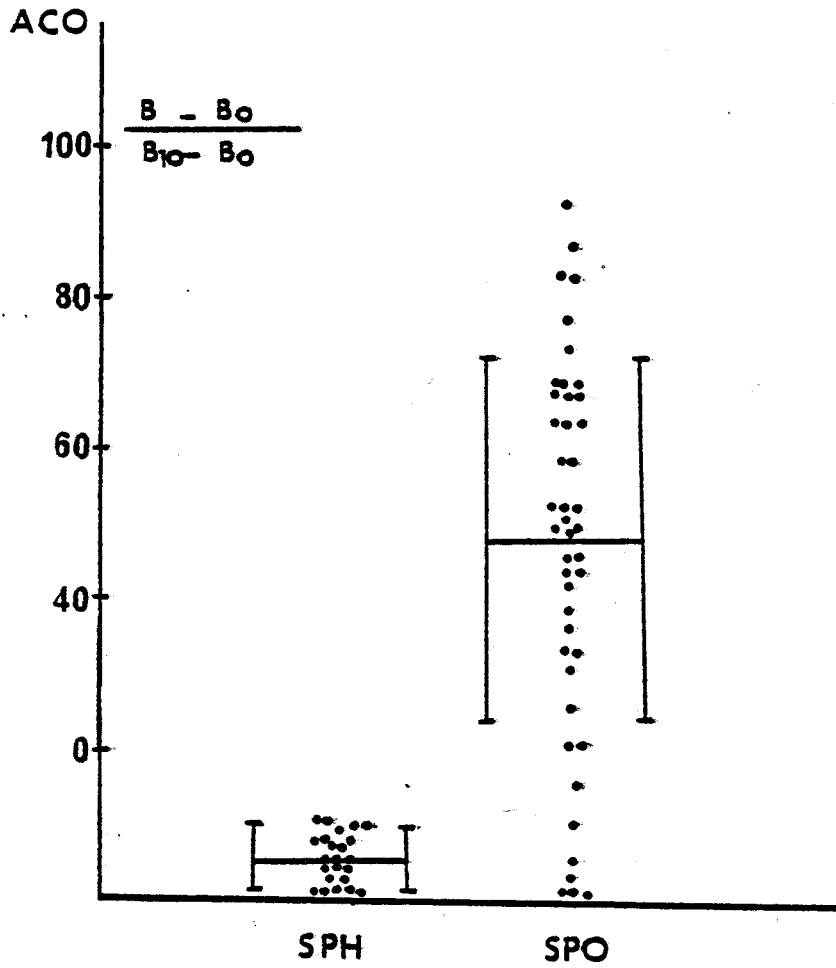


Fig. 6a : Détection des antigènes circulants par le SRIA. Sérums de patients onchocerquiens (S.P.O.). Sérums de patients infectés par d'autres helminthes (S.P.H.).

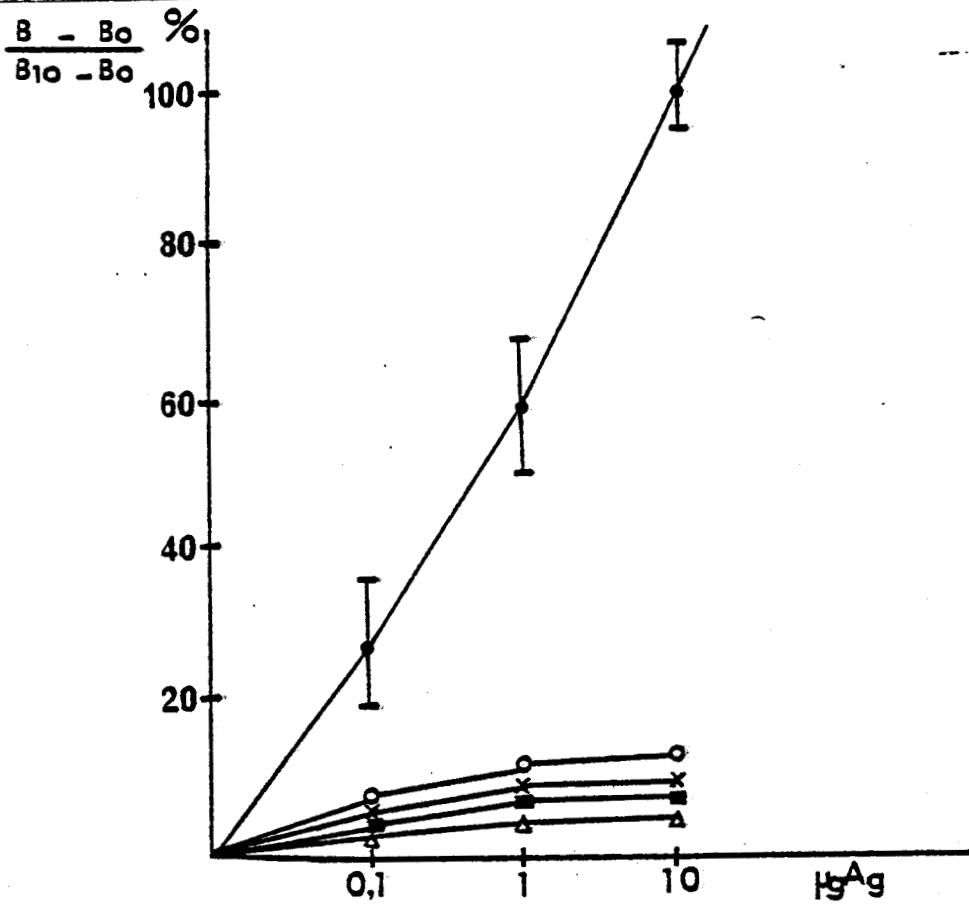


Fig. 6b : Spécificité du test S.R.I.A. avec différents antigènes (Ag) parasitaires dissolus dans du sérum humain normal.

● Onchocerca volvulus ; ■ F. hepatica ;
 △ S. mansoni ; ○ D. viteae ; x A. lumbricoïdes .



Par ailleurs, une bonne corrélation est observée entre les taux d'antigènes circulants obtenus par le SRIA et ceux observés par le RIPEGA (Fig. 7).

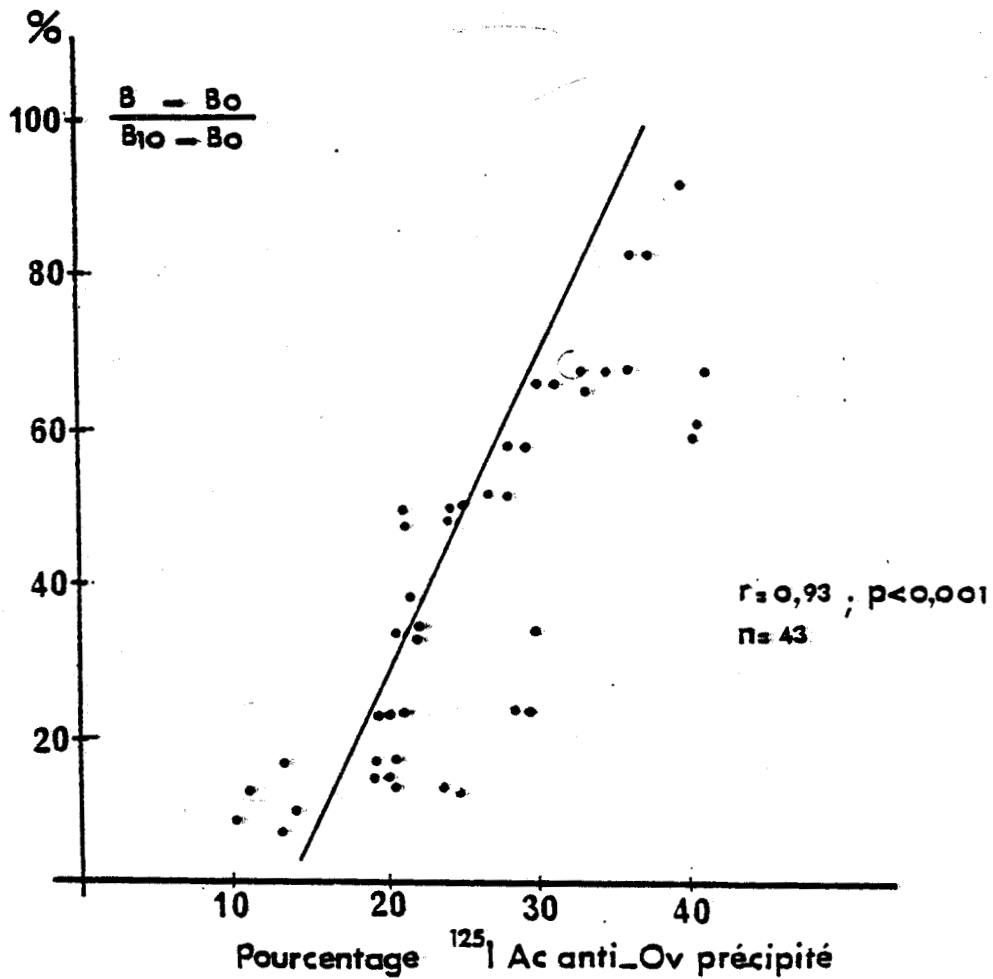


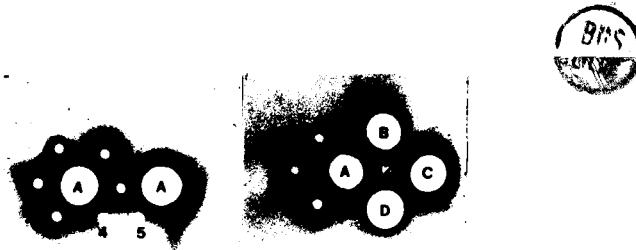
Fig. 7 : Corrélation entre les taux d'antigènes circulants décelés par le S.R.I.A. et le RIPEGA dans les sérums de patients onchocerquiens.

4. Détection des Ag circulants dans les urines de patients onchocerquiens

La méthode de double-diffusion a permis de démontrer la présence d'une ou deux bandes de précipitation dans les urines de patients infectés par O. volvulus (Fig. 8) ; l'un des arcs de précipitation est identique à l'arc majeur présent dans le sérum de malade onchocerquien (Fig. 8a). Aucune réaction de précipitation n'a pu être observée quand l'urine d'un sujet sain diffuse contre l'HIS de lapin anti-O.v. préalablement adsorbé par du sérum humain normal.

L'identité de cet antigène circulant détecté dans les urines avec un des composants de O. volvulus est démontrée par une réaction d'identité (Fig. 8b). La spécificité parasitaire et onchocerquienne est mise en évidence en utilisant des HIS de lapins obtenus après immunisation par des extraits antigéniques de O. volvulus, D. viteae, S. mansoni et A. lumbricoïdes ; seul l'HIS anti-O.v. réagit avec l'urine de patient infecté pour former un arc de précipitation (Fig. 8b). La précipitation est absente quand on utilise l'urine d'un sujet sain.

La Figure 9 montre que le RIPEGA appliqué aux urines permet la détection des antigènes circulants dans ce milieu biologique. Mais ce résultat est encore préliminaire. Nous avons été limités dans la poursuite



DETECTION DES Ag. CIRCULANTS O.V. DANS LES URINES DE PATIENTS ONCHOCERQUIENS

- I Antigène *O. volvulus*
- 2 Urine de patient onchocerquien
- 3 Serum de patient onchocerquien
- 4 Urine normale
- 5 Serum normal
- A Immun serum anti *O. volvulus*
- B Immun serum anti *D. viteae*
- C Immun serum anti *S. mansoni*
- D Immun serum anti *A. lumbricoïdes*

Figure 8

de nos travaux par le manque de matériels qui sont habituellement recueillis en Afrique ; zone d'endémie onchocerquienne.

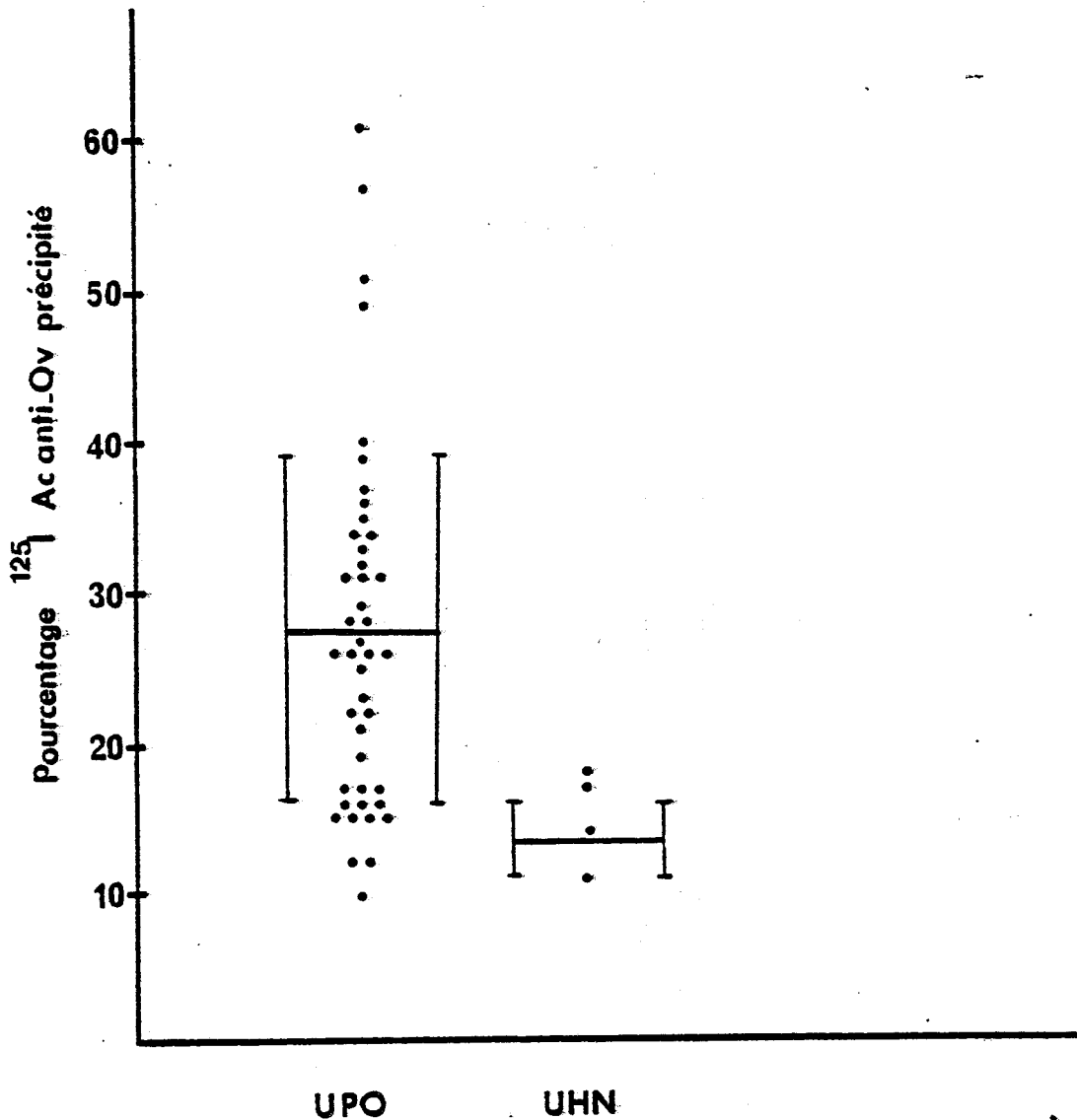


Fig. 9 : UPO : urines de patients onchocerquiens

UHN : urines humaines normales.

Détection des antigènes circulants dans les urines par la technique du RIPEGA.



5. Caractérisation de l'antigène circulant O. volvulus

Les études préliminaires que nous avons conduites nous ont indiqué que ces antigènes majeurs présentent une réaction d'identité partielle avec un composant contenu dans la fraction d'un extrait total d' O. volvulus soluble dans l'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % (Fig. 10).

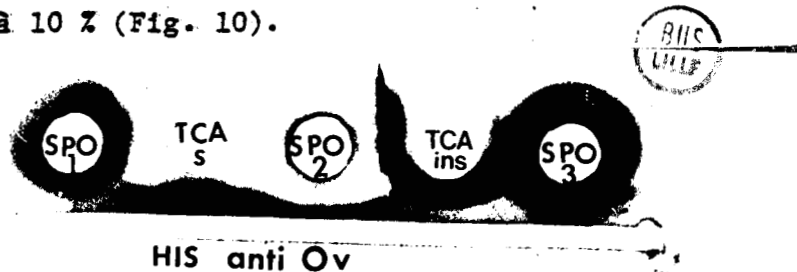


Fig. 10 : Mise en évidence d'une identité partielle entre ACO et l'un des composants d'extrait total d'O.v. soluble dans l'acide trichloroacétique (TCA_s) HIS. OV. hyperimmunsérum anti-O.v. ; sérum de patient onchocercarien (SPO).

L'analyse par électrophorèse en gel de polyacrylamide (Sodiumdodecylsulfate) 0,1 % semble indiquer que cet antigène majeur présent dans la fraction de l'antigène soluble dans le TCA a un poids moléculaire d'environ 50 000 daltons (Fig. 11).

Cette bande légèrement coloré d'une part au bleu de comassie et d'autre part intensément colorée

par le réactif de Schiff donne des informations sur la nature polysaccharidique de/des antigène(s) circulant(s) d' O. volvulus . Ces résultats étant préliminaires, la purification de l'Ag O. volvulus et la préparation d'un immunosérum monospécifique de l'ACO majeur pour son isolement rendront les résultats plus précis.

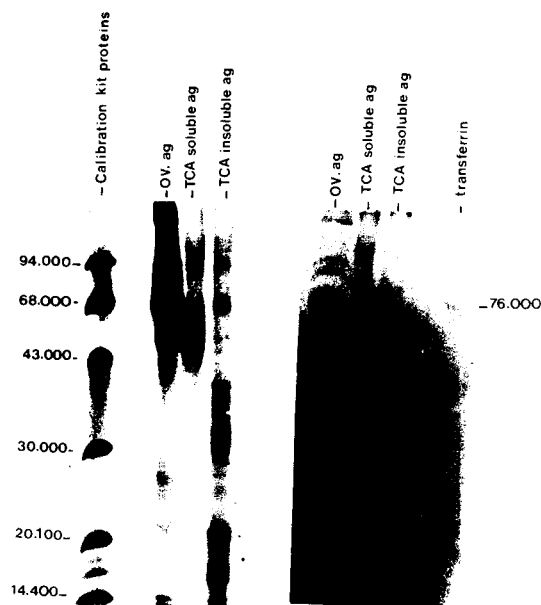


Fig. 11 électrophorèse - PAGE - SDS

a. Coomassie

b. Schiff

6. Discussion

De nombreux travaux ont démontré qu'un grand nombre de parasites libèrent des antigènes solubles dans les tissus et dans la circulation sanguine de l'hôte (WILSON, 1974). La mise en évidence des antigènes circulants, particulièrement dans les schistosomiasis avec la possibilité d'améliorer l'immunodiagnostic a été longuement discutée (CARLIER et al., 1977).

Dans la présente étude, nous avons démontré pour la première fois la présence des antigènes circu-

lants dans les sérums et les urines des patients infectés par O. volvulus . Les méthodes de double diffusion (DD) et d'IEP ont permis de déceler les ACO chez 31 % de malades alors que les techniques radioimmunologiques en détectent chez plus de 75 %.

a) Spécificité de l'ACO

- l'ACO pourrait correspondre à un des nombreux antigènes tissulaires ou des nombreux composés contenus dans les sérums et les urines sains. Mais son absence de parenté antigénique avec les protéiques sériques ou urinaires et son absence dans les sérums et les urines sains excluent cette possibilité. Des lames étant systématiquement lavées au citrate de sodium à 5 % qui dissout uniquement les précipités dus à la substance C élimine le lien entre la nature de cette dernière et l'ACO. Nous pouvons en déduire que l'ACO est spécifique du parasite.

- Durant leur évolution chez l'hôte, les onchocercs libèrent des produits de métabolisme, de lyse somatique (structure de membrane et des téguments des vers ou des microfilaires par "turn-over"), mais peuvent provoquer des lésions à l'origine d'auto-antigènes. Toutes ces substances reconnues par les lymphocytes de l'hôte comme étrangères sont des antigènes potentiels.

Etant donné que l'ACO majeur est identique à un des composants de l'extrait total des vers adultes d' O. volvulus , identique chez les malades onchocériens et inexistant chez les témoins, l'hypothèse que l'ACO a au moins une spécificité parasitaire est vérifiée.

Mais pourrait-il exister une autre spécificité ? L'antigène soluble total d' O. volvulus est constituée outre des antigènes parasitaires, des substances sériques ou érythrocytaires plus ou moins dégradées ; il contient aussi des sécrétions-excrétions du tube digestif et sans doute des antigènes communs à l'hôte et au parasite, tel est le cas de S. mansoni (DAMIAN, 1967). L'identité de l'ACO à l'un des composants de l'extrait parasitaire d' O. volvulus pouvant contenir des substances non spécifiquement parasitaires, ne permettrait donc pas d'affirmer, de manière absolue, sa spécificité parasitaire. Cependant, l'ACO présent uniquement chez les malades, pourrait présenter des spécificités d'hôte. Mais l'absence de réaction croisée avec du sérum et l'urine humains normaux et l'utilisation d'un HIS absorbé par du sérum humain montrent que l'ACO ne possède pas les déterminants antigéniques des substances communes à l'hôte.

L'ACO pourrait aussi se rapporter à un néo-antigène. Il pourrait s'agir de structures sériques dé-

gradées par des enzymes parasitaires, à l'exemple de l'antigène S mis en évidence dans le sérum de patients infestés par P. falciparum (WILSON, 1974) ou à l'exemple de l'antigène présent chez les patients infestés par Trypanosoma (BOREHAM et FACER, 1974). Ces néoantigènes peuvent être présents dans les extraits parasitaires et ne pas exister chez l'hôte sain. L'hypothèse de la néospécificité de l'ACO est peu probable du fait de l'absence de réaction croisée avec le sérum et l'urine du sujet normal.

En résumé, l'ACO pourrait être :

- un produit d'excrétion-sécrétion libéré par parasite
- un enzyme parasite fixé à son substrat
- un constituant parasite fixé à un élément d'hôte synthétisé ou adsorbé par le parasite.

L'ACO apparaît donc dérivé d' O. volvulus .

L'origine urinaire de l'ACO peut être justifiée d'une part par la présence des microfilaires dans les urines et d'autre part les ACO seraient filtrés au niveau rénal pour se trouver dans les urines.

Notons aussi que les ACO décalés sont sous forme libre mais peuvent être complexés et avoir alors un épitope libre qui fixe au cours de la réaction une molécule d'Ac-125 I. Nous dosons de ce fait les antigènes libres et les antigènes complexés. Ce sont en

général de petits complexes.

b) Sensibilité et spécificité des techniques utilisées pour la détection des ACO

Les techniques radioimmunologiques (RIPEGA et SRIA) appliquées à la détection des ACO apparaissent plus sensibles et reproductibles pour l'investigation des antigènes circulants dans l'Onchocercose. La différence de pourcentage de malades infectés trouvé positif pour l'ACO par la DD (31 %) et par le RIPEGA ou le SRIA (plus de 75 %) peut être expliquée par les limites techniques particulières à chaque méthode. Il a déjà été montré que la DD et/ou l'IEP sont moins sensibles pour la détection des taux faibles d'antigènes circulants dans la schistosomiase (CARLIER et al. , 1975 ; CARLIER et al. , 1978). De plus, ces techniques de précipitation nécessitent de grandes quantités de sérums qui doivent être concentrées.

Le SRIA proposé pour la détection des antigènes circulants dans les infections à S. mansoni (CARLIER et al. , 1980) a donné des résultats satisfaisants quand il a été appliqué à l'Onchocercose. Il permet la détection d'au moins 30 µg/ml d'antigène O. volvulus . Statistiquement, les différences significatives entre les sujets infestés et les sujets sains en RIPEGA et les observations faites sur le SRIA confirment la présence des ACO dans les sérums des patients

onchocerquiens. Les courbes de dilutions des sérums (Fig. 5) sont un facteur réponse en faveur du dosage des antigènes circulants et de leur présence dans le sang. Une corrélation hautement significative entre les deux techniques est à noter ($P \leq 0,001$). La difficulté de détecter les antigènes circulants par les techniques sensibles comme le RIPEGA et le SRIA chez approximativement 1/4 d'individus infectés peut être dû à un excès relatif de site de liaison anticorps par rapport aux sites exprimés par les antigènes circulants présents dans ces sérums de malades. Les ACO libérés dans la circulation forment des complexes Ag-Ac. Ces antigènes complexés ne peuvent plus fixer d'autres molécules d'Ac. Ceci justifierait aussi les faux négatifs que nous trouvons parmi nos malades. Cependant, les techniques radioimmunologiques et de double-diffusion appliqués sur les immuns complexes isolés et dissociés confirmeront ou infirmeront dans la suite de nos travaux certains résultats négatifs.

Aussi, étant donné le stade préliminaire de nos travaux, un artefact des techniques utilisées peut être à l'origine des faux négatifs et des faux positifs par exemple :

- le marquage fort des anticorps augmente le bruit de fond ;
- l'utilisation des sérums de lapin polyspé-

cifiques et non monospécifiques de l'ACO majeur.

L'emploi des anticorps plus purifiés, dans un système de compétition où nous aurons un antigène marqué (antigène de O. volvulus) et un antigène froid (ACO) rendra les techniques plus sensibles et plus quantitatives.

Toutefois, l'absence des ACO chez des sujets onchocerquiens peut être justifiée si ces derniers sont soit tout au début de l'infection, soit qu'ils ont subi des cures successives de Notézine.

Le taux de microfilaires chez les individus est très variable chez les sujets infectés que nous avons étudiés, le taux varie (de 0 à 475 microfilaires/biopsie cutanée). Le test de corrélation ne montre pas d'autre relation entre les taux des ACO et la microfilarodermie. Ce phénomène peut être dû au fait que les tests radioimmunologiques seraient capables de détecter de faibles taux de ACO alors que les microfilaires fréquemment, ne peuvent être détectées que par examen microscopique direct.

Toute la sérologie des helminthiases est basée sur la recherche des anticorps. La nature et la source des antigènes employés peut contribuer d'une manière significative à la sensibilité et à la spécificité des méthodes de l'immunodiagnostic. Malheureusement, les antigènes du groupe filaire ont, pour la plu-

part, une spécificité si faible que le diagnostic sérologique des filaires reste encore un peu obscur. Il est probable que la détection des antigènes circulants dans le sang ou excrétés dans les urines, déterminent l'étiologie au niveau des espèces, et indique la présence d'une infection active.

Dans le présent travail, nous avons trouvé que l'ACO peut être mis en évidence chez un grand nombre d'individus infectés par Onchocerca volvulus, si les techniques sensibles sont utilisées.

Bien que les hyperimmuns sérums préparés contre d'autres extraits parasitaires ne révèlent pas l'ACO dans les sérums des sujets onchocerquiens, l'emploi de l'hyperimmunsérum de lapin anti- O. volvulus contre les sérums des malades infectés par d'autres filaires humaines (Wuchereria bancrofti, Loa loa, Brugia malayi) détecte des antigènes circulants. Cette dernière observation indique que certains antigènes circulants des filaridés possèdent au moins un déterminant antigénique commun.

Dans la suite des travaux, la préparation d'un hyperimmunsérum monospécifique anti-bande majeure ACO éliminera les réactions croisées actuellement observées.

B. ETUDE DES IMMUNS COMPLEXES CIRCULANTS (CIC)

1. Détection des immuns complexes

Les antigènes circulants présents dans le sérum des onchocerquiens peuvent être sous forme libre ou encore se lier aux anticorps dont ils ont suscité la synthèse, pour former des immuns complexes circulants. L'étude de ces immuns complexes pourrait apporter des informations précieuses sur l'immunopathologie et sur la réponse immune de l'hôte.

Notons la particulière fréquence des immuns complexes circulants décelés chez les malades par la technique de liaison $C_{1q}^{125}I$. En effet, 80 % des malades présentent des taux d'immuns complexes significativement supérieurs à ceux des sujets sains ($P < 0,001$)

(Fig. 12).

Par ailleurs, nous n'observons pas une corrélation entre le taux des CIC et celui des ACO (Fig.13) ($r = 0,3$; $n = 62$).

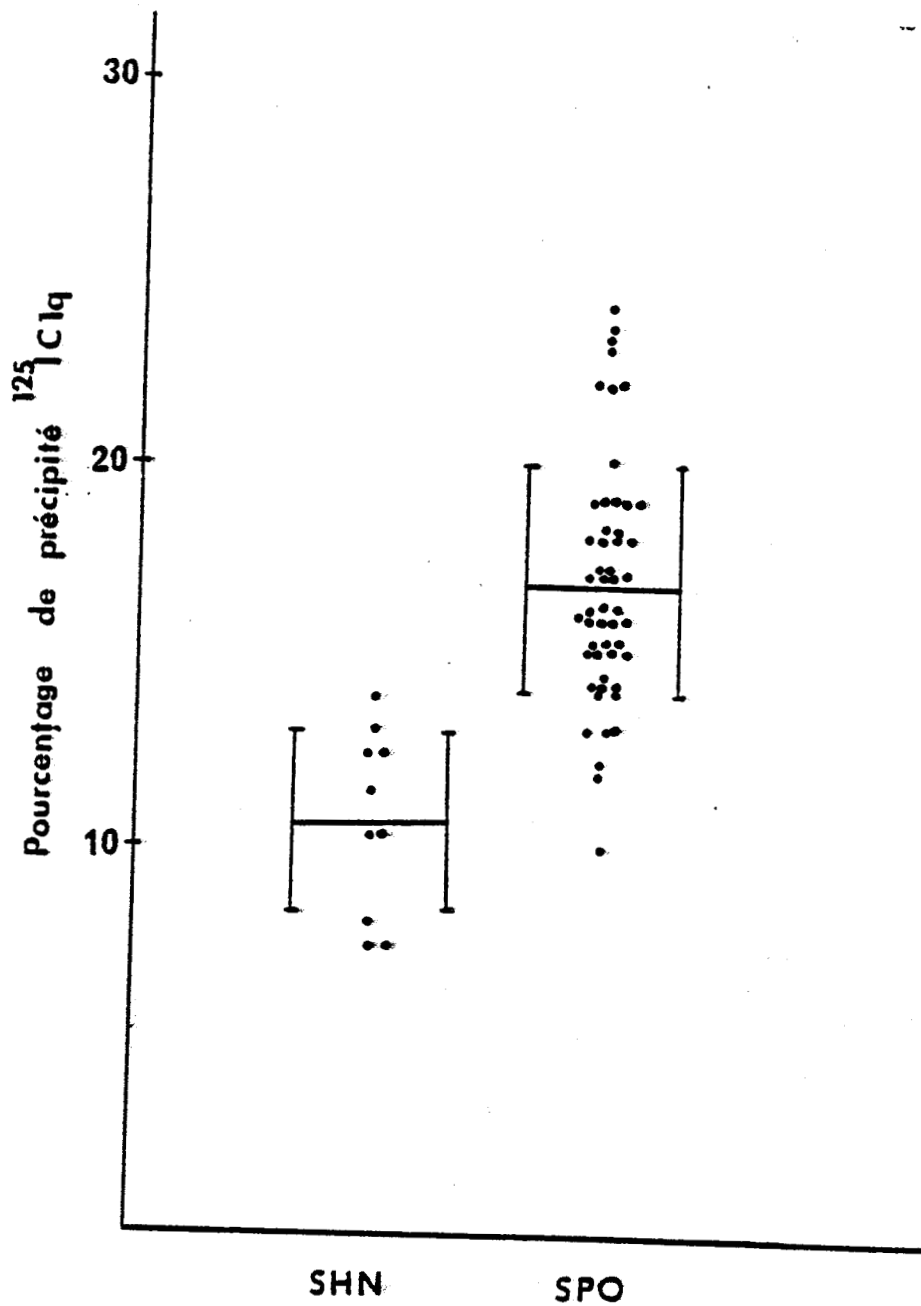


Fig. 12 : Détection des immuns complexes dans les sérums des patients onchocerquiens (SPO) ; sérums humains normaux (SHN).



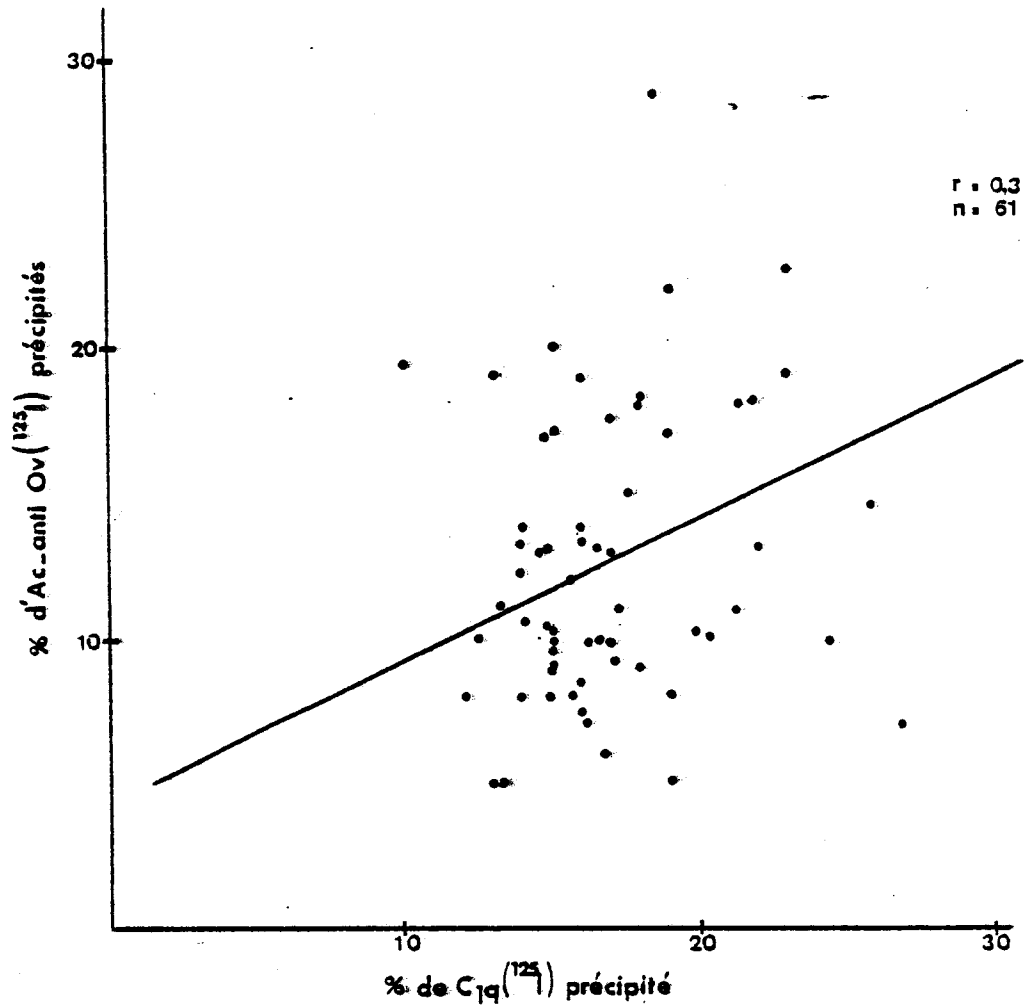


Fig. 13 : Corrélation entre le taux des ACO et celui des immuns complexes circulants.

Dans la population onchocerquienne que nous avons étudiée, il n'y a pas de corrélation entre le taux des ACO et celui des immuns complexes circulants. La valeur du coefficient de corrélation est très faible ($r = 0,3$).

2. Caractérisation des immuns complexes

La présence d'IgG et d'IgM a été étudiée par immunoélectrophorèse dans les immuns complexes précipités au PEG (polyéthylène-glycol) à 3 % du sérum de 18 onchocerquiens. Les IgG et les IgM sont présentes chez tous ces malades. Par contre, nous n'avons pas mis en évidence des IgA (Fig. 14). L'antigène complexé est de nature parasitaire car l'HIS de lapin anti- O. volvulus utilisé en immunoélectrophorèse permet la mise en évidence dans des précipités à 3 % de PEG du sérum de 12 malades d'un arc cathodique semblable à l'arc majeur cathodique démontré sur la Figure 1b.

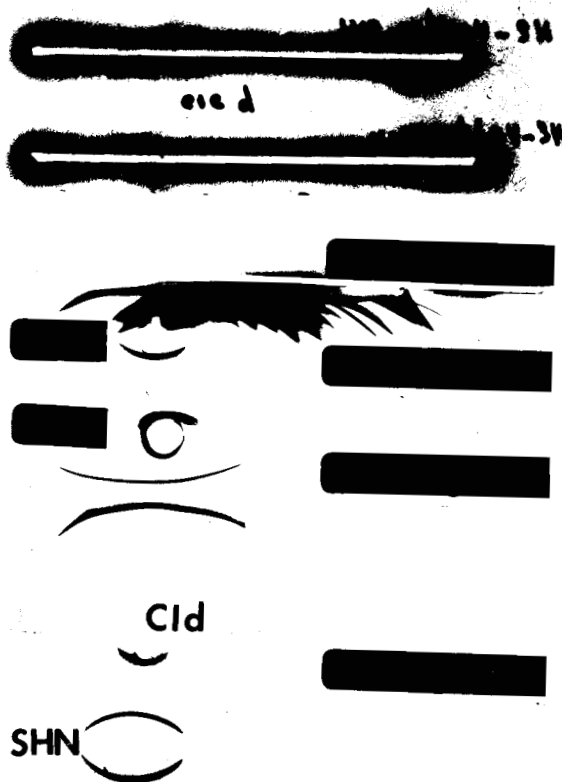


Fig. 14 : Caractérisation des composants formant les complexes immuns circulants (CIC). Sérum humain normal (SHN) ; complexes immuns circulants dissociés (CIC d) ;

3. Discussion

Les immuns complexes circulants ont été détectés dans les sérums de sujets onchocerquiens (LAMBERT et al. , 1978 ; PAGANELLI et al. , 1980 ; GUERRA-CACERES et al. , 1980 ; GREENE et al. , 1980) mais rien ne renseigne sur leur composition chimique et la nature de l'antigène impliqué.

Dans ce travail, nous avons montré que les complexes antigène-anticorps circulants peuvent être détectés dans les sérums de patients onchocerquiens mais que les taux varient d'un malade à l'autre. 80 % des malades étudiés présentent un taux significativement élevé d'immuns complexes circulants par rapport aux sujets sains ($P < 0,001$). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par LAMBERT et al. (1978). Néanmoins, les taux de ces composés circulants ne corrèlent pas avec la microfilarodermie. Des travaux récents ont montré une absence de corrélation entre le taux de complexes circulants et celui d'anticorps spécifiques présents chez les malades.

Nos analyses sur la nature des immunoglobulines complexées révèlent que les IgG et les IgM sont toutes les deux impliquées dans la formation des immun-complexes.

Pour ce qui est de la détection et de la ca-

ractérisation des immuns complexes circulants, diverses méthodes ont été proposées au cours des dernières années, elles sont basées sur les propriétés physicochimiques et biologiques particulières des immuns complexes. Les techniques de détection sont surtout des méthodes non spécifiques de l'antigène :

- La lecture de la densité optique d'un précipité en PEG à 3 % (CREIGHTON et al. , 1973)

- L'association de la précipitation en PEG à 3 % avec l'étude du pouvoir anti-complémentaire des complexes (SANTORO et al. , 1976)

- Le test de liaison au C_{1q} - ^{125}I (NYDEGGER et al. , 1976a).

La technique faisant appel au C_{1q} marqué et que nous avons choisie pour effectuer nos travaux possède des avantages de spécificité et de sensibilité liées à la nature-même du composant du complément radiomarqué qu'elle met en jeu. Néanmoins, elle ne permet pas l'identification des antigènes ou des anticorps complexés.

Quant à la caractérisation des immuns complexes, deux méthodes ont été utilisées pour la mise en évidence d'antigènes et/ou d'anticorps participant aux immuns complexes circulants. Le premier consiste à séparer les immuns complexes circulants des molécules

d'antigènes et d'anticorps libres non complexés. Le second a été la caractérisation proprement dite de ces composants complexés. La purification des immuns complexes a été obtenue par une précipitation en PEG à 3 %

Grâce aux méthodes d'immunoprécipitation (immunoélectrophorèse et immunodiffusion radiale) des antigènes et des immunoglobulines ont été mis en évidence dans les complexes circulants purifiés. Comme il a été fait dans la schistosomiase à S. mansoni (BOUT et al. 1977), dans la trypanosomiase expérimentale du rat par T. brucei et dans l'hépatite virale (LAMBERT et HOUBA 1974 ; SANTORO et al. , 1979). Bien que peu sensibles, la double diffusion et l'immunoélectrophorèse se sont révélées très efficaces pour la caractérisation de ces composants. Néanmoins, elles ne permettent pas d'apprécier quantitativement la participation de ces composants complexés.

Nous n'observons pas de corrélation entre le taux des ACO et celui des immuns complexes dans l'Onchocercose. Il est permis de penser que les immuns complexes circulants à des taux relativement élevés peuvent provenir d'une autre infection, du fait du poly-rabisme des sujets vivant en zone d'endémicité parasitaire ; cela signifie que hormis les antigènes O. volvulus , d'autres antigènes (bactéries, virus,

parasites...) sont intéressés dans la formation de certains immuns complexes. L'absence de corrélation viendrait aussi de ce que l'ACO majeure n'est pas le seul antigène d' O. volvulus qui participe à la formation des immuns complexes ; il existe probablement d'autres ACO que nous n'avons pas encore mis en évidence et qui seraient complexés. Ces observations plaident en faveur du grand intérêt de la mise au point d'un test spécifique de l'antigène qui détermine aussi le rôle important des complexes dans l'évolution de l'Onchocercose.

Jusqu'alors le rôle des immuns complexes est mal connu dans cette infection contrairement à la schistosomiase où ces composés interviennent dans glomérulonéphrites (ANDRADE et al. , 1971 ; BRITO et al. , 1971 ; CAVALLO et al. , 1974 ; Von LICHTENBERG et al. , 1971 ; QUEIROZ et al. , 1973 et SILVA et al. , 1970) et dans le paludisme où ils sont impliqués dans la splénomégalie tropicale et dans l'anémie (ZIGLER et al. , 1973 ; OMS, 1975).

La pathologie des lésions dermiques (gale filarienne, lichénification de la peau), des lésions oculaires et divers autres symptômes qui apparaissent après un traitement, par exemple la Notézine, suggèrent que les complexes joueraient un rôle. Mais une technologie couramment valable pour démontrer que les immuns complexes circulants sont associés à ces lésions fait

défaut. Cependant, des observations montrent que durant le traitement avec la Notézine, les taux des immuns complexes ne sont pas modifiés dans certains cas (GUERRA-CACARES et al.) mais par contre diminuent dans d'autres (GREENE et al. , 1980).

Une méthode de détection plus spécifique de l'antigène complexé permettra la compréhension du rôle des complexes immuns circulants dans l'immunopathologie de l'Onchocercose en particulier et des filarioses en général.

Les ACO, certes, provoquent la synthèse de différents anticorps, donc certains participent à la formation des immuns complexes circulants. Parmi ces anticorps, existeraient les IgE qui sont aussi intéressées dans les réactions de type anaphylactique. L'étude de la réponse IgE spécifique nous semble donc intéressante à ce titre.

C - DOSAGE DES IgE SPECIFIQUES DANS L'ONCHOCERCOSE

1. Dosage des IgE totales

Au vu de certaines réactions de types allergiques, observées chez certains onchocerquiens on a pensé à l'existence des anticorps anaphylactiques de la classe des IgE, dans l'Onchocercose. Et le dosage des IgE totales dans le sérum des malades onchocerquiens montre que ces derniers ont un taux élevé d'IgE (Fig. 15). La différence entre le taux de cette classe d'immunoglobuline présente chez les malades et celui trouvé chez les sujets sains originaires des zones endémiques est hautement significative ($P \leq 0,001$). Néanmoins, les sujets sains africains ont un taux élevé d'IgE totales comparativement aux témoins européens ($P \leq 0,001$).

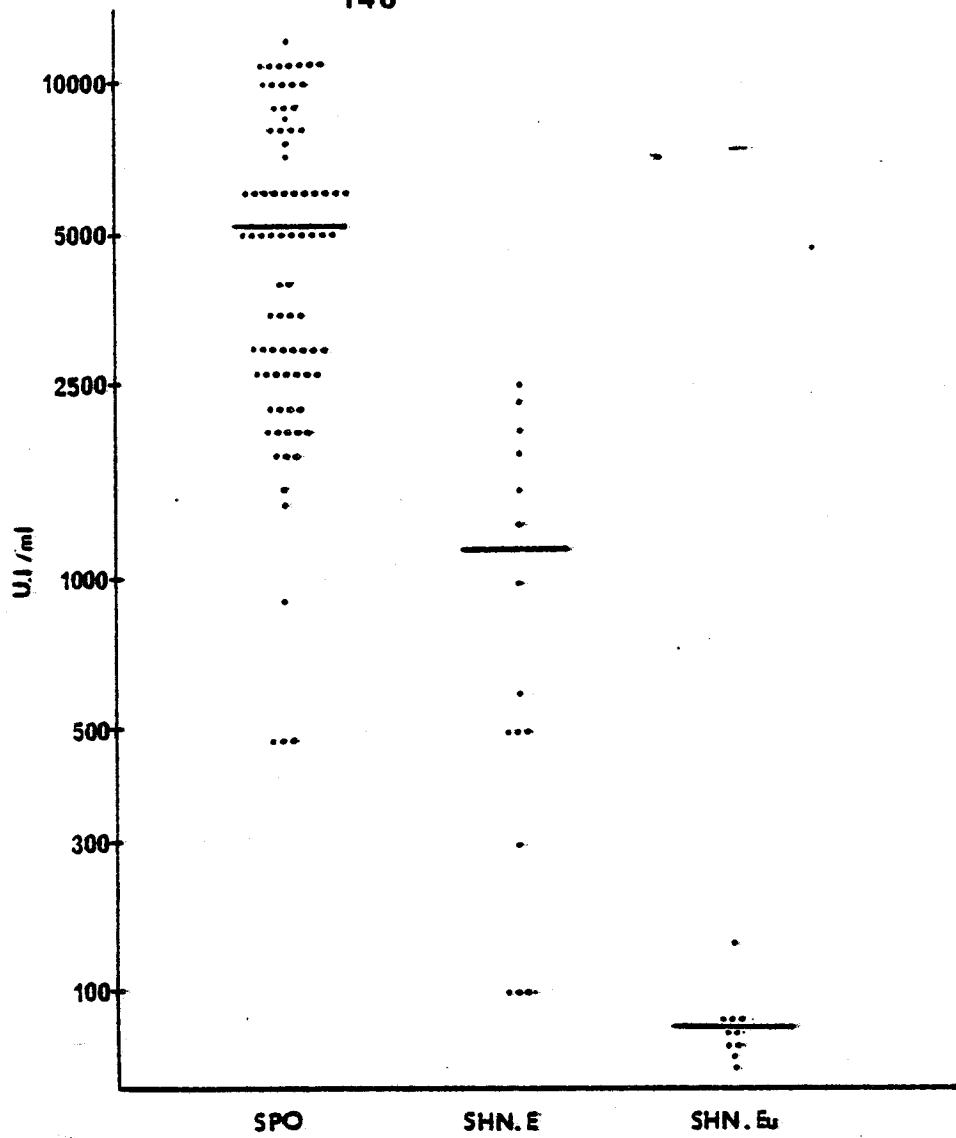


Fig. 15 : Dosage des IgE totales

SPO : Sérums de patients onchocerquiens

SHN.E : Sérums de sujets normaux originaires des zones endémiques

SHN.Eu. : Sérums humains normaux européens.

2. Dosage des anticorps IgE spécifiques dans les sérums de patients onchocercariens

Afin de vérifier l'affinité de liaison IgE-antigènes (allergènes), nous avons jugé nécessaire d'utiliser un sérum de référence. Ce sérum et ceux de certains onchocercariens ont été testés à différentes dilutions. Les pentes des courbes sont parallèles (Fig. 16). Ceci confirme que nous avons une avidité de fixation IgE-antigène comparable d'un sérum à l'autre et justifie alors l'utilité d'un sérum de référence dans le dosage des IgE spécifiques par cette technique.

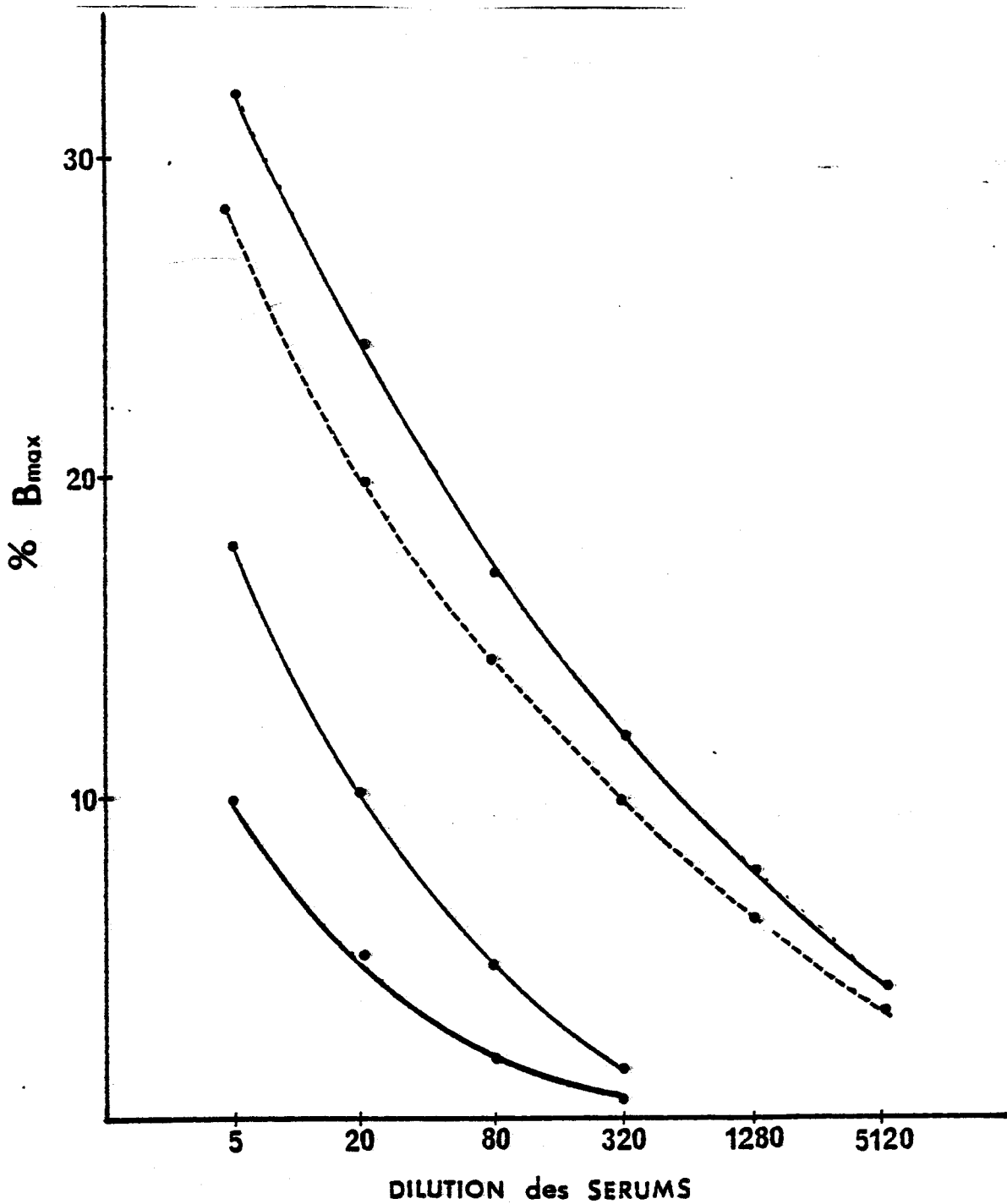


Fig. 16 : Dilutions de différents sérums onchocer-
quiens (●—●). Sérum de référence
(●- - -●).

195
1957

Des malades porteurs de gale filarienne (qui est l'un des signes cliniques de l'onchocercose) ont des valeurs très élevées d'IgE spécifique d'O. volvulus (Fig. 17) par rapport aux malades ayant un taux faible ou élevé de microfilaires dans la peau, et par rapport aux témoins sains originaires des zones endémiques ($P \leq 0,001$).

Deux différentes approches nous ont permis de vérifier la spécificité de la réponse IgE dans l'Onchocercose : l'une consiste à utiliser les sérums de malades infectés par d'autres helminthes tels que Schistosoma mansoni, Ascaris lumbricoïdes, Fasciola hepatica et par d'autres filaires humaines (Loa loa, Wuchereria bancrofti et Brugia malayi). Ces sérums sont testés en RAST contre les antigènes O. volvulus (Fig. 17a) d'une part, et D. viteae d'autre part (Fig. 17b). Les valeurs moyennes en pourcentage de Bmax (% Bmax) de ces patients infectés par ces helminthes sont significativement faibles comparativement à celles des onchocerquiens ($P \leq 0,001$) néanmoins certains sérums de filariens autres que les onchocerquiens ont des valeurs légèrement élevées.

Dans la seconde approche, les sérums onchocerquiens sont testés en RAST contre d'autres antigènes d'helminthes (S. mansoni, A. lumbricoïdes et D. vi-

teae) fixés sur des disques de papier. Avec les antigènes de S. mansoni ou A. lumbricoïdes , nous n'avons pas des valeurs élevées de manière significative en % Bmax (Fig. 18), seuls quelques onchocerquiens ont des valeurs légèrement élevées avec ces deux antigènes.

Cependant, avec l'antigène D. viteae , les sérums onchocerquiens donnent des valeurs presque égales à celles obtenues avec l'antigène de O. volvulus . Mais les sérums de sujets infectés par des helminthes comme S. mansoni , A. lumbricoïdes , F. hepatica ou par d'autres filaires humaines.

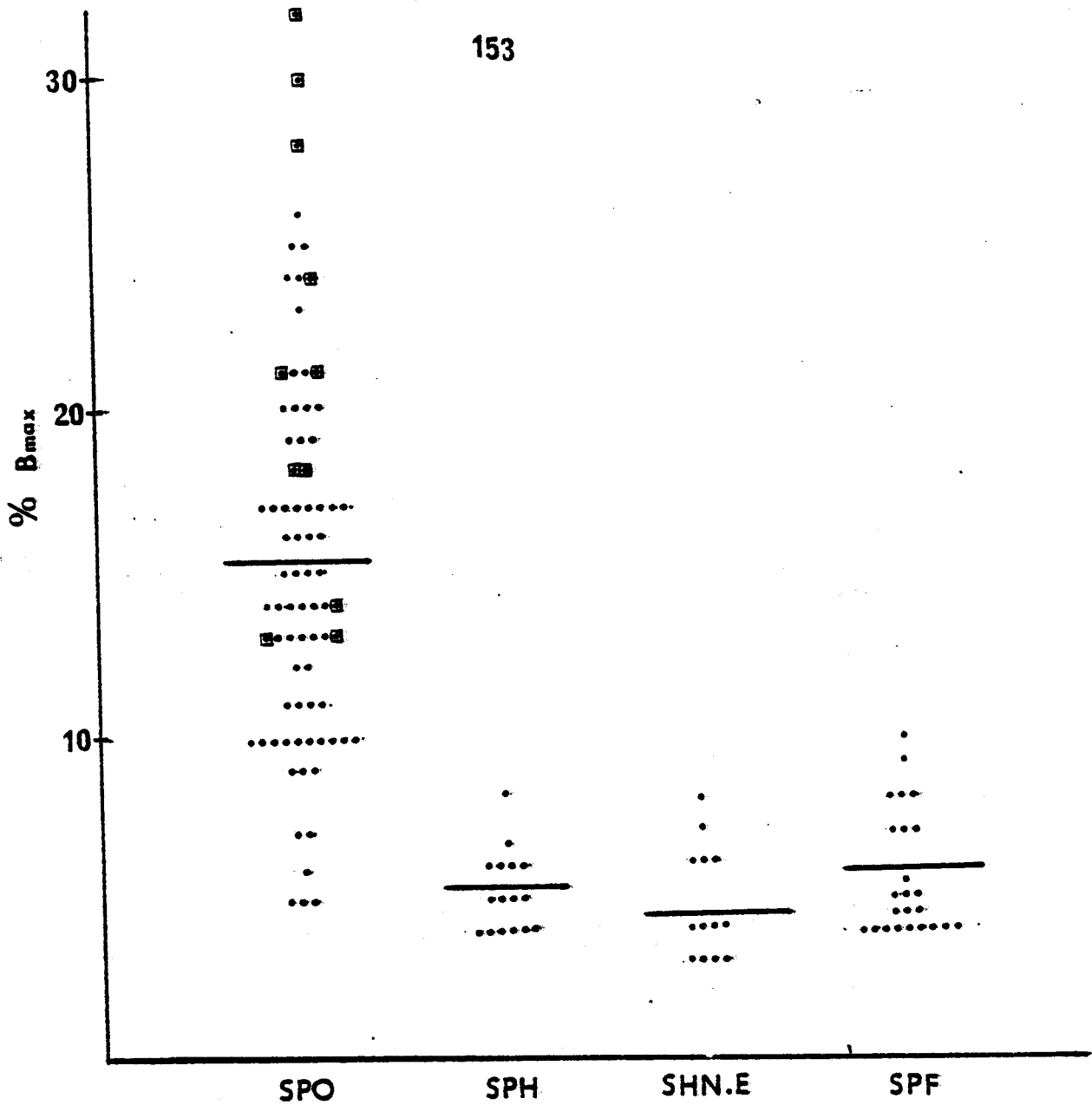


Fig. 17a : RAST/antigène O. volvulus

Dosage des IgE spécifiques dans l'Onchocercose.

SPO : Sérum de patients onchocerquiens

SPH : Sérum de patients infectés par d'autres helminthes

SHN.E. : Sérums de sujets sains originaires des zones endémiques

SPF : Sérums de sujets infectés par d'autres filaires.



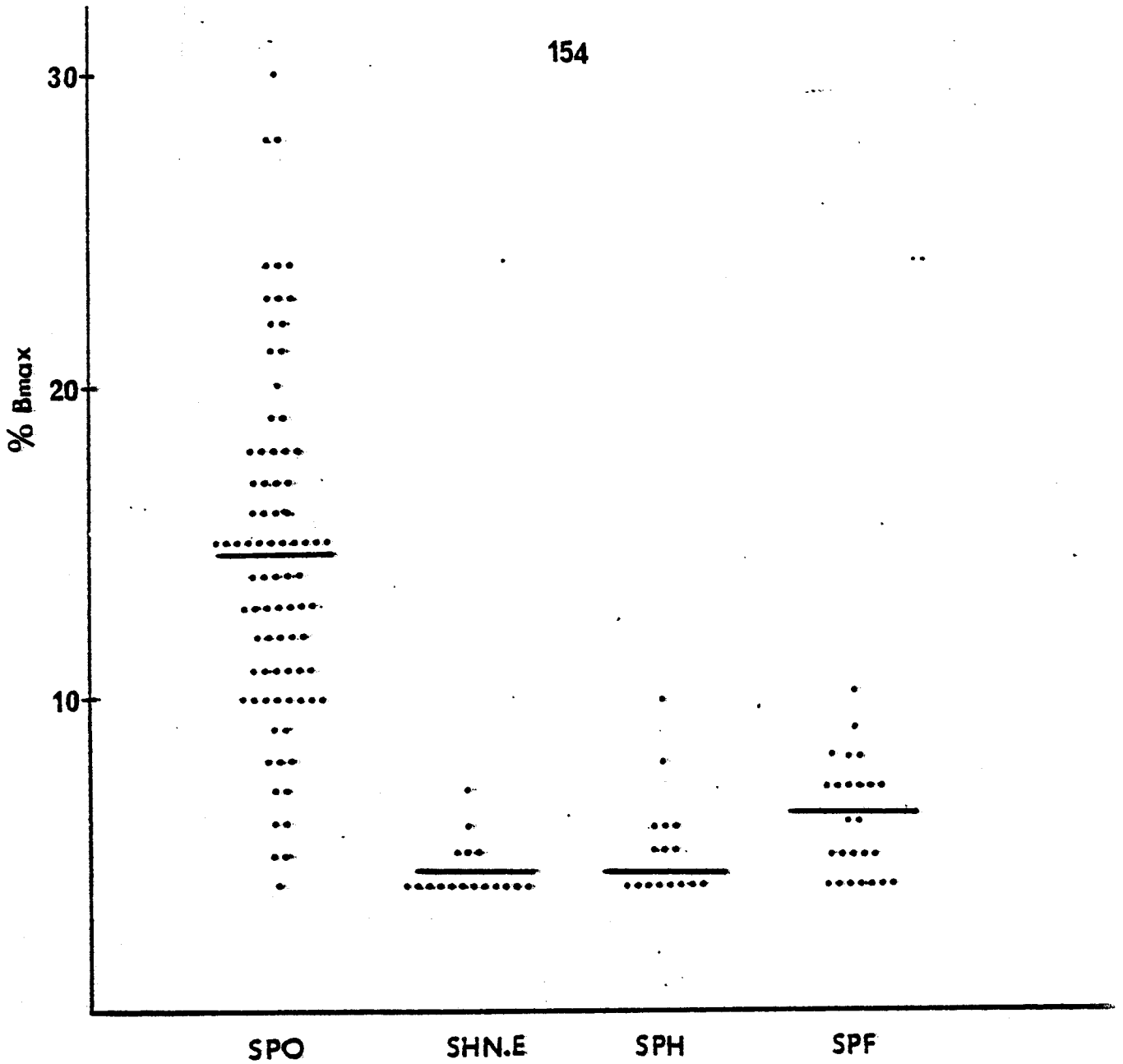


Fig. 17b : RAST/antigène D. viteae .

Détection des IgE spécifiques dans l'On-
chocercose.

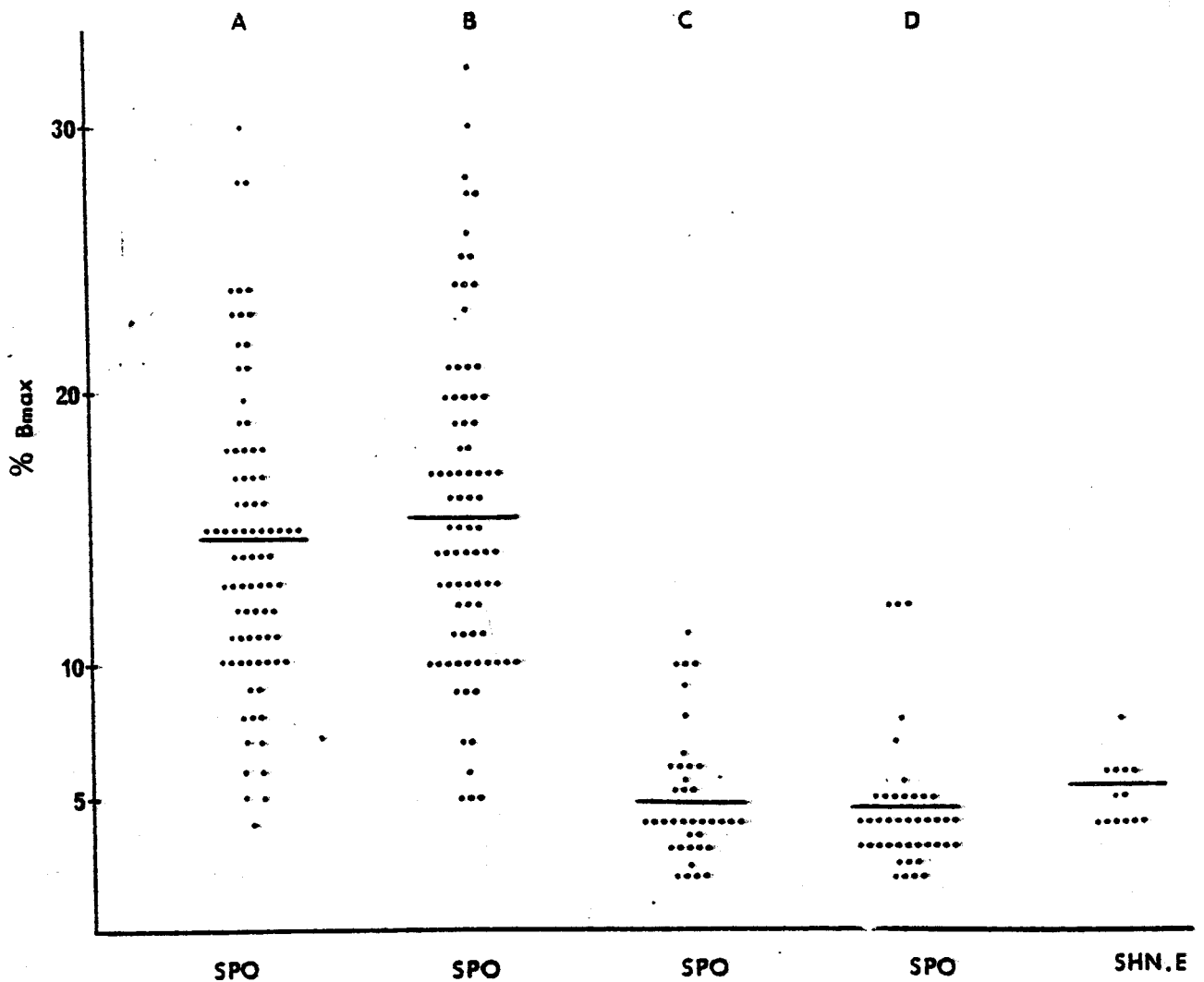


Fig. 18 : Spécificité du RAST avec différents antigènes (Ag) parasitaires

A) D. viteae ; B) O. volvulus ; C) S. mansoni ; D) A. lumbricoïdes .

SPO : Sérums de patients onchocerquiens

SHN.E. : Sérums humains normaux originaires des zones endémiques

Les SHN.E. donnent les mêmes valeurs de pourcentages de Bmax (% Bmax) quelque soit l'antigène utilisé.



(W. bancrofti , L. loa , B. malayi) ne donnent pas une valeur hautement significative en % Bmax comparées aux sérums onchocerquiens quand l'antigène D.v. est employé (Fig. 18). Ces derniers résultats démontrent les réactions croisées entre les allergènes des extraits totaux de D.v. et O.v.

Toutefois, il existe une nette corrélation entre les valeurs trouvées en RAST avec les antigènes O.v. et les valeurs trouvées en RAST avec les antigènes D.v. (Fig. 19).

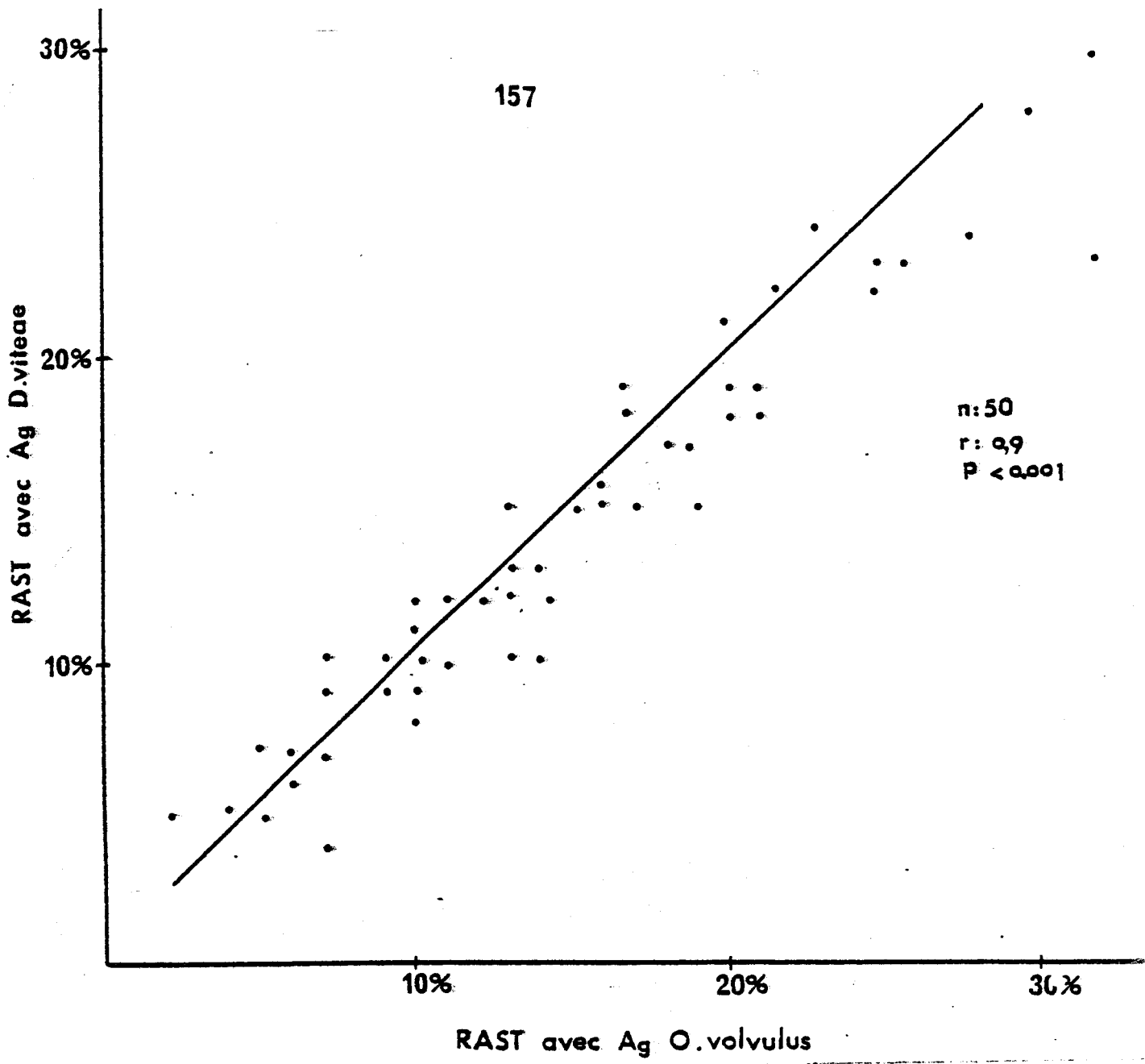


Fig. 19 : Corrélation entre RAST/O.v. et RAST/DV



3. Mise en évidence des réactions croisées entre les allergènes de *O. volvulus* et de *D. viteae*

Dans les expériences d'inhibition, les sérums des onchocerciens sont passés sur des immunoabsorbants préparés avec les antigènes *O. volvulus* d'une part et de *D. viteae* d'autre part (Fig. 20). Nous avons remarqué une nette diminution des IgE fixant *O. volvulus* après absorption des sérums avec des antigènes *O. volvulus* ou avec les antigènes *D. viteae* par rapport aux sérums non traités ($P < 0,001$) (Fig. 20, B₁B₂, D₁D₂, C₁C₂). La déplétion est encore plus grande avec les antigènes homologues *O. volvulus* qu'avec les antigènes hétérologues *D. viteae* ($P < 0,02$) (Fig. 20, D₁D₂). Par ailleurs, en radioimmunoélectrophorèse les anticorps IgE dans les sérums des onchocerciens reconnaissent les allergènes présents dans les extraits totaux de *O. volvulus* et dans ceux de *D. viteae* (Fig. 21a). Cette observation est en faveur de l'utilisation des extraits antigéniques de *D. viteae* pour le dosage des IgE spécifiques dans l'Onchocercose. Nous avons aussi remarqué que les allergènes de *D. viteae* sont différents de ceux de *O. volvulus*, vue la position des arcs de précipitation. L'allergène majeur contenu dans l'extrait total de *D. viteae* correspond à l'arc décrit par CAPRON et al. (1968) qui permet de poser le diagnostic spécifique de l'Onchocercose quand

l'antigène D. viteae est opposé à un sérum de patient infecté. La différence de l'aspect immunoélectrophorétique des bandes de précipitation démontre la présence d'un allergène spécifique à O. volvulus .

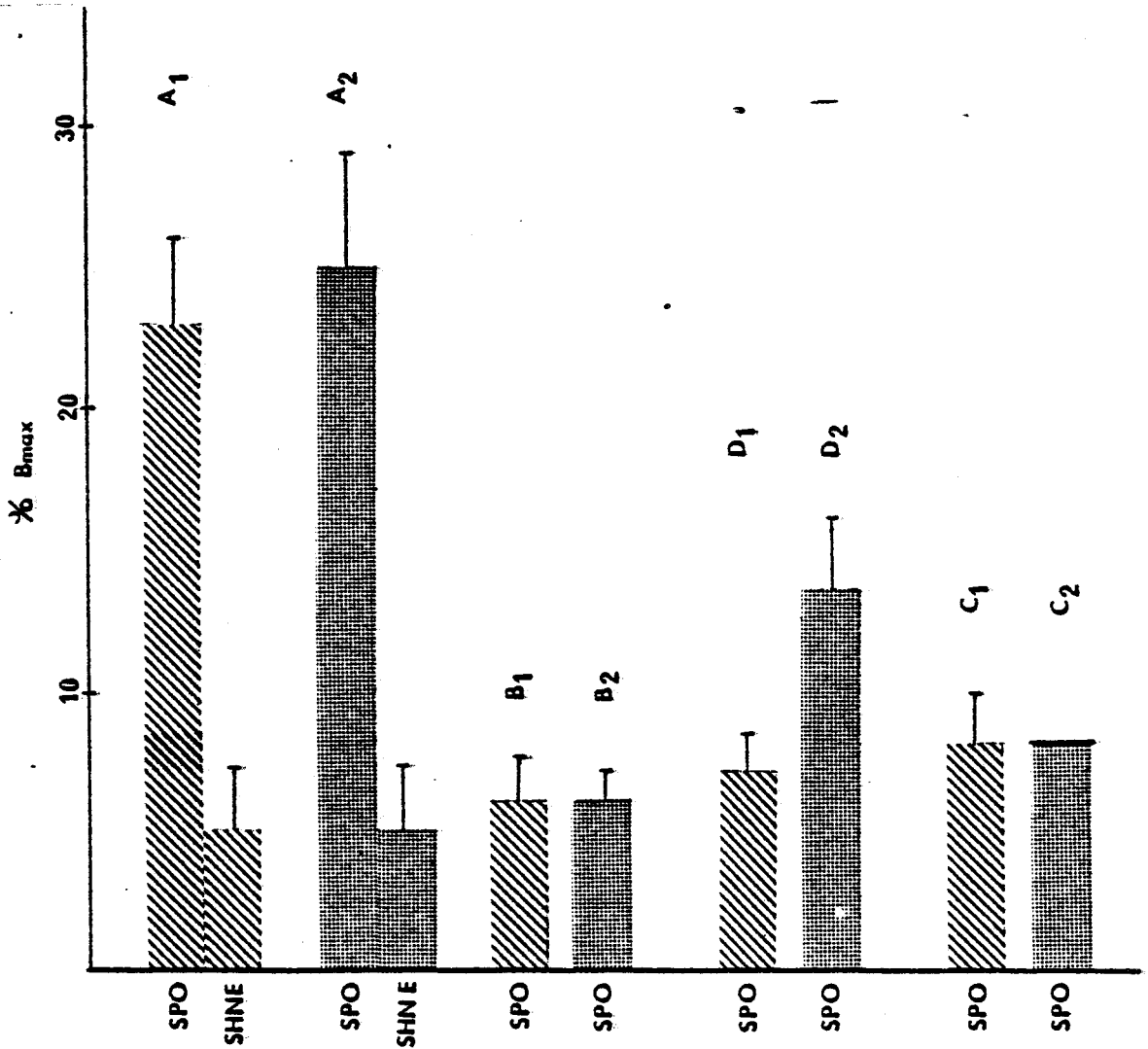




Fig. 20 : Test d'inhibition

() RAST/OV ; () RAST/DV

A₁A₂ : Sérums non traités

B₁B₂ : Sérums passés sur Immunoabsorbant préparé
avec O. volvulus

C₁C₂ : Sérums passés sur Immunoabsorbant préparé
avec Ag D. viteae

D₁D₂ : Sérums passés successivement sur Immunoabsorbant préparé avec Ag D. viteae et sur



immunoabsorbant préparé avec Ag O. volvulus

SPO : Sérums de patients onchocerquiens

SHN.E : Sérums humains normaux originaires
des zones endémiques.

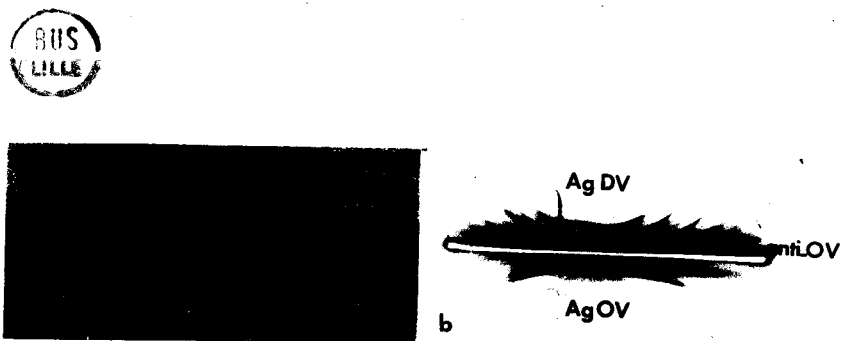


Fig. 27 : Radioimmunoélectrophorèse

4. DISCUSSION

Une synthèse accrue des IgE a été observée dans les helminthiases, causée par : Ascaris lumbricoY des (JOHANSSON et al. , 1968), Toxocara canis (HOGART-SCOTT et al. , 1969 ; HEINER et ROSE, 1970), S. japonicum (KOJIMA et al. , 1979) et S. mansoni (KELLERMEYER et al. , 1979). Dans d'autres parasitoses, des taux élevés d'IgE ont été observés (BENNICH et JOHANSSON, 1971 ; BALL et al. , 1971 ; JARRETT, 1972 : JARRETT et KERR, 1973 ; DESSAINT et al. , 1975). Ce phénomène a été décrit dans les filarioses humaines : la bancroftose (NEVA et al. , 1975 et ITO et al. , 1972), la filariose à Brugia malayi (HUSSAIN et al. , 1981) et l'onchocercose (SOMORIN et al. , 1977 ; WEISS 1981). Il a été de plus suggéré que les anticorps IgE spécifiques d'un parasite joueraient un rôle important à la fois dans l'immunité protectrice vis-à-vis des helminthiases et dans la pathologie de certaines manifestations des helminthiases (CAPRON et DESSAINT, 1977 ; OTTESEN et al. , 1979).

Les études que nous avons entreprises nous ont permis de déceler la présence des IgE spécifiques du parasite dans les sérums des malades onchocerquiens.

Si l'on tient compte de l'IgE totale, dans les sérums de malades, plusieurs auteurs ont montré que

cette classe d'immunoglobuline peut être à des taux très élevés dans les états allergiques comme par exemple dans l'asthme (JOHANSON et BENNICH, 1967 ; HOGARTH-SCOTT et al. , 1971) et dans les dermatoses (GUREVITCH et al. , 1973 ; GUNNAR et al. , 1970). D'autres auteurs ont noté l'association entre le taux élevé des IgE sériques et les infections parasitaires (BALL⁴ et JARRETT, 1979 ; HOGARTH-SCOTT et JOHANSON, 1969 ; JONES et al. , 1970 ; WHALEN et al. , 1971). CAPPUCINELLI (1971) a montré par immunodiffusion l'importance des taux d'IgE dans certaines parasitoses gastro-intestinales et urogénitales.

Les résultats trouvés dans la présente étude sur les IgE dans l'Onchocercose correspondent aux observations décrites par SOMORIN et al. et plaident en faveur du fait que les infections parasitaires sont les causes de l'augmentation des IgE dans les sérums. Ceci implique aussi que l'Onchocercose stimule la production d'un taux élevé des IgE. En outre, les sujets sains originaires des zones endémiques montrent un taux élevé d'IgE totales comparativement aux sujets sains européens. D'autres facteurs peuvent influencer la réponse IgE dans l'Onchocercose, citons surtout le polyparasitisme et les facteurs génétiques (BAZARAL et al. , 1971). Etant donné l'importance des taux d'IgE chez des sujets n'ayant apparemment aucun signe

clinique ou parasitologique d'une infection par O. volvulus , le dosage des IgE spécifiques de la filaire présente alors un grand intérêt.

Différentes techniques ont été décrites pour le dosage des IgE : immunodiffusion radiale (ROWE, D.J. 1969), la méthode radioimmunologique par double anticorps (GLEICH et al. , 1971), la technique radioimmunologique en phase solide (BENNICH et JOHANSON, 1971) et l'ELISA (HAMILTON et al. , 1981). Le RAST (Radioallergosorbent test) est actuellement la méthode de choix pour la détermination sérologique des anticorps IgE, ceci en raison de sa grande sensibilité, de sa reproductibilité et de sa simplicité. Le RAST mesure l'affinité des anticorps IgE. Cette affinité dépend de la pureté de l'antigène. De plus, cette technique mesure en pourcentage la quantité d'IgE spécifiques à moins que les sérums aient des affinités de liaisons similaires, ils ne peuvent pas être comparables par le RAST. Pour palier à ce désavantage, plusieurs sérums ont été testés à des dilutions différentes, le parallélisme des courbes indique que les affinités de fixation sont comparables et valident ainsi l'emploi d'un sérum de référence et l'application du RAST pour le dosage des IgE spécifiques de l' O.v. HUSSAIN et al. (1981) ont fait les mêmes observations au cours de l'étude sur les IgE spécifiques de Brugia malayi .

Nous avons observé un taux élevé d'IgE spécifiques d' Onchocerca volvulus chez 74 % d'onchocerci-
quiens mais une corrélation avec la microfilarémie n'a
pas été établie. L'absence d'IgE spécifique de la fi-
laire chez 30 % environ de malades soulève la question
de savoir si des mécanismes régulateurs sont impliqués
dans l'inhibition de la production des anticorps IgE
spécifiques du parasite chez ces individus ou si le
seuil de sensibilité de la technique utilisée est limi-
tée. Outre cela, nous ignorons si ces malades ont été
traités par des drogues parce que, suivant la chimio-
thérapie, le taux des anticorps IgE peut diminuer comme
il a été décrit dans la schistosomiase et dans l'hyda-
tidose (ITO et al. , 1972 ; DESSAINT et al. , 1975 ;
BEKHTI et al. , 1977).

Dans ce test, la faible affinité des anti-
corps IgE aux antigènes onchocerci-
quiens peut être écar-
tée et les IgE dosées seront d'une grande avidité à
O. volvulus . Signalons aussi que les taux des IgE
spécifiques seraient plus élevés si les sérums étaient
préalablement débarrassés des anticorps IgG et IgM et
d'autres anticorps bloquants qui se lient aux détermi-
nants antigéniques, gênant ainsi la fixation d'un maxi-
mum de molécules d'anticorps IgE sur l'antigène.

De plus, une infection par helminthe peut
potentialiser la réponse réaginique contre d'autres an-

tigènes (KOJIMA et OUARY, 1975 ; JARRETT et al. ,1976).

Il est possible que, suite à une chimiothérapie, les anticorps IgE circulants spécifiques du parasite s'accumulent à l'endroit où se trouvent les microfilaires mortes dans les tissus, entraînant ainsi une réaction inflammatoire qui fait intervenir les polynucléaires basophiles et éosinophiles.

L'une des observations intéressantes que nous avons relevée est la présence des réactions croisées entre les allergènes contenus dans l'extrait total des vers adultes de O. volvulus et de D. viteae , filaires qui infectent respectivement l'homme et les rongeurs. Ceci confirme les résultats de WEISS (1981) sur la réaction croisée de l'extrait total de D. viteae avec les anticorps IgE présents dans les sérums onchocerciens. Les expériences d'immunoabsorption pendant lesquelles les sérums de patients onchocerciens sont passés sur des immunoabsorbants préparés avec de l'antigène O. volvulus d'une part et D. viteae d'autre part, montrent clairement une diminution significative des IgE spécifiques quand on utilise l'immunoabsorbant D.v. ($P < 0,001$). La déplétion en IgE est maximale quand les sérums de malades sont absorbés avec l'antigène homologue O.v. Ceci indique que dans l'extrait total d' O. volvulus , en plus des allergènes communs à D.v. et O.v., il existe des allergènes spécifiques de O.v.

La présence d'une bande spécifique révélée par l'anti-IgE- ^{125}I dans la réaction entre le sérum d'un patient onchocerquien et les antigènes D. viteae est en faveur de l'hypothèse émise ci-dessus.

Les résultats de la radioimmunoélectrophorèse confirment la parenté allergénique entre les extraits totaux de O. volvulus et de D. viteae. L'image des précipitines électrophorétiques montre que l'anti-IgE- ^{125}I reconnaît une des bandes majeures de l'extrait antigénique de D. viteae décrit par CAPRON et al. (1968) et qui permet de poser le diagnostic de l'Onchocercose quand on utilise l'extrait antigénique des vers adultes de D. viteae. La présence des allergènes communs à O. volvulus et D. viteae ouvre de nouveaux horizons sur l'isolement et la purification des allergènes à partir des extraits totaux de D. viteae. Ces allergènes pouvant être utiles dans la détection des IgE spécifiques de O. volvulus. Une telle approche est intéressante si on considère les difficultés d'obtenir les antigènes O. volvulus à partir des nodules prélevés sur des sujets infectés vivant en zones endémiques.

Dans les filarioses expérimentales, certains auteurs ont noté la participation des IgE dans les mécanismes effecteurs. Ces anticorps sont capables d'induire in vitro une adhérence et une cytotoxicité des éosinophiles et des macrophages de rat normal aux mi-

crofilaires (HAQUE et al. , 1981). Par ailleurs, on a pensé que les anticorps IgE interviennent dans la réaction de MAZZOTTI dans l'Onchocercose. Il reste maintenant à démontrer clairement comment les anticorps IgE sont impliqués dans l'immunopathologie, particulièrement après ou pendant le traitement.

A cause de la grande spécificité des anticorps IgE dans l'Onchocercose humaine, l'isolement des allergènes spécifiques du parasite par un anticorps monoclonal ouvre la voie pour le développement des méthodes d'immunodiagnostic et pour l'étude des propriétés fonctionnelles de ces allergènes.

CONCLUSION

Le travail que nous avons réalisé représente une contribution à l'étude des antigènes et des complexes immuns circulants, et à l'étude de la réponse IgE dans l'Onchocercose humaine.

La détection des antigènes circulants, le dosage des immuns complexes circulants et des IgE spécifiques par différentes méthodes sensibles et spécifiques paraissent présenter un intérêt évident pour le diagnostic précoce, pour la compréhension des phénomènes immunopathologiques et dans les recherches épidémiologiques en matière de filariose. Elle peut permettre le dépistage des porteurs asymptomatiques. Cet intérêt ira grandissant au fur et à mesure que les méthodes et les techniques seront rendues plus sensibles et plus spécifiques. Toutefois, dans les zones d'endémie filarienne, compte-tenu du polyparasitisme, il faut s'adresser pour la recherche des antigènes circulants, des complexes immuns circulants et des IgE spécifiques aux techniques les plus spécifiques et les plus sensibles. C'est pourquoi l'isolement et la caractérisation des antigènes circulants et la production in vitro d'anticorps monoclonaux comme cela a été récemment démontré dans le laboratoire pour les schistosomes seront le progrès et les espoirs tant attendus dans le domaine

des filarioses en général et de l'Onchocercose en particulier.

A côté de l'intérêt diagnostique que représente la connaissance des antigènes circulants, des immuns complexes et des IgE spécifiques, le problème essentiel reste celui de leur rôle dans la protection dans les phénomènes immunologiques et dans l'immunopathologie.

PROTOCOLE DES TECHNIQUES UTILISEES

IMMUNISATION DES LAPINS1. La Méthode de Vaitukaitis

. La technique décrite par VAITUKAITIS et al.

(1971) permet d'utiliser des doses minimales d'antigènes. On obtient dans un délai de 6 semaines des immunosérums à l'aide d'une seule dose immunisante (1 à 2 mg d'extraits antigéniques). Mais cette méthode n'est pas à conseiller pour l'obtention d'hyperimmunosérums contre les extraits Ag totaux car la carte antigénique révélée par ces immunosérums ne concerne au plus qu'environ la moitié des composants révélés par les hyperimmunosérums. La combinaison immunisante est préparée extemporanément de la façon suivante :

- 2 mg d'antigène lyophilisé ou leur équivalent en protéines
- + 1 ml d'eau physiologique (NaCl 9 %)
- + 2 ml d'adjuvant de Freund incomplet (Difco)
- + 5 mg (4 mg) de Mycobacterium butyricum (Difco).

La solution, après émulsion, est administrée en 40 injections intradermiques de 0.05 ml dans la zone rasée du dos du lapin. Simultanément, 1 ml de vaccin coquelucheux adsorbé (Perthydral, Institut Pasteur) est injecté par voie intramusculaire dans la cuisse du la-

pin.

Les lapins sont saignés tous les 8 jours. Le prélèvement de sang se réalise à la veine marginale de l'oreille du lapin par un dispositif de saignée sous vide. Dès l'obtention du sérum désiré, les animaux sont exsanguinés afin d'obtenir le maximum d'antisérum. Si dans un délai de 3 à 6 semaines, la réponse anticorpale est négative ou trop faible un rappel par voie sous-scapulaire est effectué après un délai de 6 semaines.

2) La Méthode par voie sous-scapulaire

Cette méthode consiste à injecter chaque semaine 2 mg d'antigène dissous dans 0,5 ml d'eau physiologique et incorporé dans un volume égal d'adjuvant complet de Freund (Difco). Le mélange, bien homogénéisé est injecté par voie transmusculaire, dans l'espace sous-scapulaire. Les injections antigéniques restent hebdomadaires, les lapins sont régulièrement saignés tous les 15 jours dès la 5ème semaine d'immunisation. Des hyperimmunsérums sont obtenus entre le 3e et le 4e mois d'immunisation.

L'épuisement des sérums de lapin anti- O.vol vulus permet d'éliminer les anticorps anti-contaminants humains. Le sérum humain normal lyophilisé est ajouté au sérum à épuiser. Le mélange est laissé 2 heures à 37°C, une nuit à 4°C, puis centrifugé 30 minutes

à 6000 g à 4°C afin de sédimenter les immuns complexes insolubles. Le surnageant est contrôlé en immunodiffusion. L'épuisement est total si le sérum ne révèle aucun arc de précipitation par le sérum humain normal.

Les sérums humains et les immunsérums de lapin sont répartis dans des tubes à hémolyse et congelés à -20°C.

DOUBLE DIFFUSION

- Réactifs :
- Agarose (Indubiose) A₃₇, Pharmindustrie
 - Barbitol sodique : Sodium diéthyl-5, 5-barbiturate (Merck)
 - HCl : titrisol 1 mol/l (Merck).

Le gel d'agarose est préparé extemporanément en dissolvant 0,9 g d'agarose dans 100 ml de Tampon véronal sodé, pH 8,2 (160 g de barbitol sodique dissous dans un peu d'eau déminéralisée + 220 ml d'HCl 1 N + eau déminéralisée, qsp 10 litres). Le mélange est porté à 85°C - 30°C dans un bain-marie pendant 20 mn en prenant soin d'homogénéiser de temps en temps. Le gel est ensuite coulé sur des lames de verre (8 x 8cm) dégraissées dans l'alcool, à raison de 11,5 ml par lame. Une fois la gélose durcie, les lames sont placées dans une enceinte humide. On creuse ensuite dans la gélose, des

puits dans lesquels on dépose les antisérums et les antigènes. La diffusion dure 48 heures (24 h à la température du laboratoire et 24 h à 4°C).

IMMUNOELECTROPHORESE (IEP)

L'immunoélectrophorèse comprend dans un premier temps une électrophorèse de l'extrait antigénique à analyser et dans un deuxième temps une double-diffusion antigène-anticorps.

La gélose et les lames sont préparées comme pour une double-diffusion.

Après gélification, puits et gouttières sont découpées dans le gel : les puits sont évidés, les gouttières ne le seront qu'après la séparation électrophorétique des antigènes.

Les lames sont déposées dans une cuve en perspex sur laquelle on fixe les électrodes. L'antigène lyophilisé est solubilisé à raison de 1 mg par 5 microlitres d'eau déminéralisée et déposé dans les puits. Le contact entre le gel et le tampon des compartiments à électrode est assuré par des ponts de papier Whatman n°1. L'électrophorèse est menée à température ambiante sous une différence de potentiel, mesurée au bord des lames, de 19 volts pendant 2 h 45. En prenant soin de couvrir la cuve pendant l'électrophorèse.

La séparation électrophorétique terminée, les

gouttières sont évidées et remplies d'immunsérum. Celui-ci est préalablement concentré 3 fois : par lyophilisation et resolubilisation dans le tiers du volume initial d'eau déminéralisée : 0,15 ml (c'est-à-dire 0,450 ml de sérum de départ) par gouttière.

Les étapes suivantes sont communes à toutes les techniques d'immunoprécipitation :

- Temps de diffusion : les lames sont placées en chambre humide contenant de l'azoture de sodium pour inhiber le développement des champignons sur la gélose. Elles sont incubées à température ambiante pendant une nuit, puis à 4°C pendant 24 h.
- Incubation en citrate trisodique (Citrate de trisodium $2H_2O$, Merck) : avant lavage, les lames sont plongées pendant 2 heures dans une solution de citrate trisodique à 5 % en eau déminéralisée, afin de dissoudre les arcs des complexes substance C-protéine C-réactive qui déterminent de fausses réactions de précipitation (BIGUET et al. , 1965a).
- Lavage : le lavage des lames se fait à température ambiante en solution physiologique (NaCl 9 %). L'emploi des hyperimmunsérums et de quantités importantes d'extrait antigénique entraîne la formation d'un dépôt opacifiant le gel lors de la coloration, il est donc nécessaire d'insister sur le lavage.
- Déminéralisation : le gel est recouvert de papier

Whatman N°1 humidifié avec de l'eau déminéralisée. Les lames sont mises à sécher à température ambiante pendant 24 heures sous ventilation. Effectuer 4 déminéralisations en changeant chaque fois de papier Whatman N°1.

- Coloration : les lames sont colorées au noir Amido (425 ml d'une solution d'acide acétique pur à 60 ml/l; 425 ml d'acétate de sodium à 13,6 g/l ; 2 g de noir Amido 10B, Merck ; eau déminéralisée q.s.p. 1000 ml). Elles sont décolorées dans une solution à 8 % d'acide acétique pur.

RADIOIMMUNOELECTROPHORESE

L'immunoélectrophorèse est réalisée sur des lames 8 x 2,5 cm selon le protocole décrit précédemment. Après 48 heures de diffusion et 3 lavages dans NaCl 9 % (24 heures), la lame est placée dans une boîte de plastique couverte. 5 ml de NaCl 9 % sont versées sur le gel. 0,3 ml de sérum de malade riche en IgE spécifiques, dosé selon la technique du RAST est ensuite ajouté. L'incubation à la température du laboratoire dure une nuit. La lame est alors lavée au moins 3 fois pendant 30 minutes. Enfin, la lame est mise en incubation pendant 24 heures avec 2 ml de tampon d'incubation (Tampon phosphate 0,05 M, pH 7,5) contenant 0,25 ug d'anticorps de lapin anti-IgE humaines marqués au ra-

dioïode (^{125}I 1 uCie) Pharmacia - Uppsala - Suède.

Le tampon d'incubation se compose comme suit : Tampon phosphate 0,05 M, pH 7,5 ; 0,3 % de séralbumine bovine, 0,9 % de chlorure de sodium, 0,1 % d'azoture de sodium et 0,1 % d'E.D.T.A.

La lame est ensuite lavée dans 10 ml d'eau déminéralisée pendant des périodes de 10 minutes. La lame enveloppée dans un papier Whatman N°1 humide est mise à sécher sous ventilation.

L'autoradiographie est réalisée avec un film Kodirex (Kodak, Sevrans, France). Le film est placé en contact étroit avec la lame pendant 3 jours et parfois une semaine.

La présence d'un allergène se traduit par la révélation sur le film d'un des nombreux arcs de précipitation que montre la coloration au Noir Amido.

Chaque expérience est répétée 3 fois avec un sérum de patient différent.

PRÉCIPITATION DES IMMUNOGLOBULINES (Ig)

A 1 ml de l'immunsérum, on ajoute :

- 0,6 ml de sulfate d'ammonium ($\text{NH}_4/2\text{SO}_4$) à 33 % de saturation (l'addition se fait lentement)
- agiter 20 mn à la température du laboratoire
- centrifuger à 1000 g pendant 20 mn à 15°C
- dissoudre ensuite le culot avec du tampon physiolo-

gique et compléter à 1 ml.

3 précipitations successives permettent d'obtenir le maximum d'Immunoglobulines.

La solution d'Immunoglobulines est dialysée contre l'eau physiologique à 9 % . La dialyse dure au moins 72 heures, en changeant le bain 2 fois par jour. Une partie de ces immunoglobulines est marquée à ^{125}I .

MARQUAGE DES Ig

200 ug d'Immunoglobulines

200 uCi de ^{125}I

50 ul de Chloramine T (1 mg/ml de Tampon phosphate 0,5 M, pH 7,4)

Incubation 1 minute sous agitation

100 ul de Métabisulfite (1 mg/ml de Tampon phosphate 0,5 M, pH 7,4).

La solution est ensuite passée sur une colonne de Séphadex G-25 M (PD-10) afin de séparer les protéines marquées de ^{125}I libre.

La solution de ^{125}I est conservée en tampon phosphate contenant 1 % de séralbumine humaine (ou bovine) pour empêcher la radiolyse et 0,02 % d'azide de sodium (NaN_3) pour empêcher le développement des bactéries.

RADIOIMMUNOPRECIPITATION-PEG-ASSAY (RIPEGA)

Dans un tube à hémolyse, on ajoute :

-0,2 ml de sérum dilué au 1/5 dans du Tampon borate 0,1 M, pH 8,2

-0,2 ml d'anticorps radiomarqués (10.000 c.p.m.).

Après 1 heure d'incubation à 37°C, et 3 h à la température du laboratoire, 3 ml de PEG à 7 % dans du tampon borate sont ajoutés ; le mélange laissé une nuit à la température du laboratoire est centrifugé à 1500 g pendant 20 minutes à 4°C.

Le précipité est lavé dans du PEG à 7 % et la réactivité du culot est mesurée dans le compteur à scintillation. Tous les tests sont faits en triplicate et plusieurs témoins négatifs sont testés. Le contrôle de radioactivité totale pour les composants radiomarqués se fait à l'aide d'une précipitation à l'acide Trichloroacétique (TCA) à 20 %.

Tampon borate :	- acide borique (H_3BO_3)	6,18 g
	- disodium tétraborate	
	($Na_2B_4O_7$)10 H_2O	9,54 g
	- Chlorure de sodium (NaCl)	4,38 g
	- eau déminéralisée q.s.p.	1000 ml

PEG : polyéthylène glycol (SERVA).

SANDWICH RADIOIMMUNOASSAY (SRIA)

Cette technique est réalisée de la façon sui-

vante : 1 ml d'une solution contenant les anticorps de lapin anti- O. volvulus non marqués sont adsorbés sur la paroi des tubes de polystyrène et ceci par une incubation 3 h à 37°C et une nuit à 4°C suivie de trois lavages dans du tampon PBS-0,02 % Tween 20. Parallèlement une autre série de tubes sont traités par des immunoglobulines de lapin normal. Les différents sérums à tester sont dilués au 1/5 dans du tampon PBS, pH 7,2 ; 1 ml de cette dilution est incubé dans les tubes traités par les anticorps anti- O. volvulus , 4 heures à la température du laboratoire ; après 3 lavages 1 ml des mêmes anticorps de lapin marqué à ^{125}I dilué au 1/400e (100 000 c.p.m.) est ajouté dans chaque tube, l'incubation dure 1 nuit et de nouveaux lavages sont effectués. La radioactivité est alors mesurée dans chaque tube.

D'autre part, 1 ml des sérums dilués au 1/5 est incubé dans les tubes traités par les immunoglobulines de lapin normal pour éliminer un éventuel facteur rhumatoïde. De plus, diverses concentrations de l'extrait antigénique d' O. volvulus et d'autres helminthes dissous dans du sérum humain normal dilué au 1/5 sont traités de la même façon. Ceci nous permet de tester la sensibilité et la spécificité de la technique.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de radioactivité :

vante : 1 ml d'une solution contenant les anticorps de lapin anti- O. volvulus non marqués sont adsorbés sur la paroi des tubes de polystyrène et ceci par une incubation 3 h à 37°C et une nuit à 4°C suivie de trois lavages dans du tampon PBS-0,02 % Tween 20. Parallèlement une autre série de tubes sont traités par des immunoglobulines de lapin normal. Les différents sérums à tester sont dilués au 1/5 dans du tampon PBS, pH 7,2 ; 1 ml de cette dilution est incubé dans les tubes traités par les anticorps anti- O. volvulus , 4 heures à la température du laboratoire ; après 3 lavages 1 ml des mêmes anticorps de lapin marqué à ^{125}I dilué au 1/400e (100 000 c.p.m.) est ajouté dans chaque tube, l'incubation dure 1 nuit et de nouveaux lavages sont effectués. La radioactivité est alors mesurée dans chaque tube.

D'autre part, 1 ml des sérums dilués au 1/5 est incubé dans les tubes traités par les immunoglobulines de lapin normal pour éliminer un éventuel facteur rhumatoïde. De plus, diverses concentrations de l'extrait antigénique d' O. volvulus et d'autres helminthes dissous dans du sérum humain normal dilué au 1/5 sont traités de la même façon. Ceci nous permet de tester la sensibilité et la spécificité de la technique.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de radioactivité :

$$\frac{B - B_0}{B_{10} - B_0} \times 100$$

B, B₀ et B₁₀ représentent la radioactivité (cpm) obtenue respectivement pour le sérum à tester, les sérums de sujets normaux et 10 ug d'extrait antigénique d' O. volvulus .

Les tests sont faits en triple.

TEST DE LIAISON AU C_{1q}[¹²⁵I]

Ce test consiste dans un premier temps à mélanger 50 ul de sérum natif à 100 ul d'une solution d'EDTA 0,2 M et incuber ce mélange au bain-marie à 37°C pendant 30 minutes. Après cette incubation, les tubes sont placés dans un bac à glace. Dans un second temps, 50 ul de C_{1q}-¹²⁵I (10 000 cpm) sont ajoutés, puis enfin 1 ml de polyéthylène glycol (PEG) à 3 %. Après une légère agitation, les tubes sont mis dans la glace pendant 2 heures. Tous les tests sont faits en triple. Trois tubes "contrôle" sont préparés en mélangeant 50 µl de C_{1q}-¹²⁵I (10 000 cpm), 150 µl d'un sérum normal et 1 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 20 %. Après le contact, tous les tubes sont centrifugés à 1500 g pendant 20 minutes à 4°C. Le surnageant est rejeté et la radioactivité du culot est comptée. Les résultats sont exprimés en pourcentage de C_{1q}-¹²⁵I

précipité dans les sérums natifs comparés au témoin de radioactivité totale obtenue avec le TCA à 20 %.

RADIOIMMUNOSORBENT TEST (RIST)

La méthode est fondée sur la compétition entre les IgE du sérum à tester et une quantité déterminée d'IgE marquée à l' ^{125}I pour les IgG anti-IgE en quantité insuffisante.

Réactifs

- Tampon phosphate - SAH (sérumalbumine humaine), tampon phosphate 0,1 M, pH 7,4, SAH 1 %
- AS : anti-IgE humaines (IgG de lapin, MILES)
- DASP (double anticorps en phase solide) : anticorps de mouton, anti-Ig de lapin (MILES).

Protocole : Les dosages sont réalisés dans des tubes en polystyrène. Chaque dosage est réalisé en triple.

a) Tubes "radioactivité totale"

100 μl IgE

b) Tube "zéro"

100 μl tampon Phosphate - SAH

100 μl IgE- ^{125}I (IgE humaines purifiées)

100 μl AS

c) Tubes "radioactivité liée non spécifiquement"

200 μl Tampon phosphate - SAH

100 μ l IgE*

d) Tubes "courbe-étalon"

100 μ l d'une dilution donnée du sérum étalon

100 μ l IgE*

100 μ l AS

e) Tubes "dosage"

100 μ l de sérum à tester dilué au 1/20

100 μ l IgE*

100 μ l AS

Les tubes légèrement agités sont laissés une nuit à température ambiante. Le lendemain, 1 ml de DASP est ajouté dans chaque tube sauf les tubes "zéro", après une agitation de 2 heures suivie d'une centrifugation 2500 t/mn pendant 2 minutes, le surnageant est aspiré et le culot de centrifugation est lavé 2 fois avec 2 ml d'eau physiologique (chaque lavage dure 10 mn). La radioactivité du culot est mesurée dans un compteur gamma.

Les résultats exprimés en unités internationales par millilitre (UI/ml) sont déterminés à partir de la courbe-étalon.

RADIOALLERGOSORBENT TEST (RAST)

L'allergène, préalablement couplé par une liaison (Bromure de cyanogène) à un disque de papier

Whatman N°1, réagit avec l'IgE spécifique contenu dans le sérum du malade.

- Introduire un des disques d'allergènes au fond de chaque tube
- Pipeter 50 µl des échantillons de sérum sur les disques
- Laisser incuber 3 heures à température ambiante
- Ajouter 2,5 ml de solution de lavage (NaCl 9 %) et laisser reposer 10 mn. Éliminer le liquide de chaque tube en utilisant une pipette Pasteur couplée à une trompe à eau

Répéter deux fois cette opération de rinçage.

Il est important que la solution de rinçage soit éliminée complètement avant la prochaine étape.

- Pipeter 50 µl d'anti-IgE-¹²⁵I au fond de tous les tubes (prévoir 2 tubes pour la mesure de l'activité totale, les boucher et les mettre de côté)
- Laisser incuber une nuit à température ambiante
- Rincer 3 fois avec une solution de NaCl 9 % - Tween 20, 1 % (le Tween 20 élimine la fixation non spécifique)
- Boucher les tubes et déterminer la radioactivité liée dans tous les tubes dans un compteur gamma.

PREPARATION DE L'IMMUNOADSORBANT

Les extraits solubles de O. volvulus et de

D. viteae sont fixés séparément à du Séphadex 4B activé au bromure de cyanogène (Pharmacia, Uppsala, Sweden) selon le protocole initialement décrit par AXEN, PORATH et ERNBACK (1967).

Protocole

1 g de Sépharose 4B est mis à gonfler dans 30 ml d'HCl 10^{-3} M. Après 15 minutes, le gel est lavé plusieurs fois sur filtre de verre fritté N°3, la solution d'HCl est soutirée sous aspiration. On lave ensuite le gel plusieurs fois avec le tampon bicarbonate-NaCl.

Immédiatement après le dernier lavage, le couplage est réalisé : on ajoute au gel la solution de l'extrait antigénique d' O. volvulus ou de D. viteae . Le mélange est agité doucement sur plateau rotatif, pendant 2 heures à température ambiante ou une nuit à 4°C. Le couplage peut être suivi par l'observation de la diminution de l'absorbance du surnageant à 280 μ m.

Le matériel non fixé est éliminé après lavage par du tampon bicarbonate (100 ml en plusieurs fois). Les groupes actifs du Sépharose (restés libres) sont bloqués par la mise en contact du gel avec environ 20 ml de tampon bicarbonate-acide 4 aminobutyrique pendant 2 heures sous légère agitation. Le gel, couplé et bloqué, est alors lavé par 3 cycles de deux traitements successifs suivants :

- tampon acétate-NaCl pH 4,0 (100 ml)
- tampon borate-NaCl pH 8,5 (100 ml)

Chaque traitement dure environ 10 minutes.

Enfin, le gel est lavé avec du NaCl 0,5 M.

L'immunoabsorption peut être alors réalisée. 1 ml de sérum est mis en contact avec 3 ml d'immunoabsorbant pendant 1 heure à la température ambiante, l'éluat est recueilli. Les anticorps adsorbés sont élués par environ 30 ml de tampon glycine pH 2,8 contenant 0,1 % d'albumine sérique bovine (BSA). L'éluat est immédiatement neutralisé par dialyse contre du PBS, puis contre de l'eau distillée.

Après l'emploi, l'immunoabsorbant est successivement lavé par du tampon glycine pH 2,2 et une solution de NaCl 0,5 M. Il peut être à nouveau utilisé une fois.

L'éluat est testé en RAST pour vérifier la déplétion en anticorps IgE anti- O. volvulus et anti- D. viteae .

Réactifs

- Tampon "bicarbonate - NaCl"

Bicarbonate de sodium	8,4 g (0,1 M)
Chlorure de sodium	29,22 g (0,5 M)
H ₂ O	qsp 1000 ml

- Tampon "carbonate-acide 4 aminobutyrique"

Carbonate de sodium	14,3 g (0,05 M)
---------------------	-----------------

- | | |
|------------------------|----------------|
| Acide 4 aminobutyrique | 5,56 g (0,5 M) |
| H ₂ O | qsp 1000 ml |
- Tampon "acétate - NaCl pH 4,0"
- | | |
|--------------------|-------------|
| Acétate de sodium | 7 g (0,1 M) |
| Chlorure de sodium | 58,44 g (M) |
| H ₂ O | qsp 1000 ml |
- pH ajusté à 4,0 avec HCl concentré
- Tampon "borate - NaCl pH 8,5"
- | | |
|-----------------------|-----------------|
| Tétraborate de sodium | 38,14 g (0,1 M) |
| Chlorure de sodium | 58,44 g (M) |
| H ₂ O | 900 ml |
- pH ajusté à 8,5 avec HCl N
- | | |
|------------------|-------------|
| H ₂ O | qsp 1000 ml |
|------------------|-------------|
- Solution d'HCl 10^{-3} M
- Solution de NaCl 0,5 M
- Sépharose 4B activé au CNBr : Pharmacia
- Extrait antigénique soluble de O. volvulus
- Extrait antigénique soluble de D. viteae
- Solution de glycine 2 M
- Tampon glycine HCl 0,2 M pH 2,8 NaCl 0,5 M
- | | |
|--------------------|---------|
| HCl N : | 200 ml |
| NaCl : | 29,22 g |
| H ₂ O : | 400 ml |
- Ajuster le pH à 2,8 avec une solution de glycine
- 2 M
- H₂O qsp 1000 ml

- Tampon glycine HCl 0,2 M, pH 2,2, NaCl 0,5 M

Préparer comme précédemment et ajuster le pH à 2,2 avec une solution de glycine 2 M.

- Solution NaCl 0,5 M

- Tampon phosphate physiologique (PBS) pH 7,4

. Tampon phosphate de sodium M pH 7,4 : 10 ml

. NaCl à 9 % qsp 1000 ml.

- Abdice, Z.H., Fadl, M.A. & El-Fil, S. Rheumatoid factor in cases of rheumatic fever and parasitic infestation in children. Ann. Rheum. Dis., 1970, 20, 660.
- Abrahamson, I.A. & Kloetzel, J.K. Presence of Trypanosoma cruzi antigen in the surface of both infected and uninfected cells in tissue culture. Parasitology, 1980, 80, 147-152.
- Adner, M.M., Altstatt, L.B. & Conrad, M.E. Coombs' positive hemolytic disease in malaria. Ann. Int. Med., 1968, 68, 33-38.
- Agnello, V., Koffler, D., Eisenberg, J.W., Winchester, R.J. & Kunkel, H.G. Clq precipitins in the sera of patients with systemic lupus erythematosus and other hypocomplementemic states : characterization of high and low molecular weight types. J. Exp. Med., 1971, 134, 228s-241s.
- Ahlstedt, S., Hanson, L.A. & Wadsworth, E. A Clq immunosorbent assay compared with thin layer gel filtration for measuring IgG aggregates. Scand. J. Immunol., 1976, 5, 293-298.
- Almeida, J.D. & Waterson, A.P. Immune complexes in hepatitis. Lancet, 1979, ii, 983-986.
- Abelev, G.I. Modification of the agar precipitation method for comparing two antigen anti-serum systems. Folia Biol., 1960, 6, 56-58.
- Andrews, J.M. Parasitism and allergy. J. Parasit., 1962, 48, 3.
- Ambroise-Thomas, P. Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence. Thèse Doctorat, Lyon, 1969.
- Ambroise-Thomas, P. & Kien Truong, T. Nouvelle technique de micro-prélèvements sanguines par la réaction d'immunofluorescence. Bull. Ass. Diplôm. Microbiol., 1968, 112, 29-33.
- Ambroise-Thomas, P. & Kien Truong, T. Application of the indirect fluorescent antibody test on sections of adult filariae to the serodiagnosis, épidemiology and post-therapeutic surveillance of human filariasis. Ann. Trop. Med. Parasit., 1974, 68, 435-452.
- Anderson, R.I., Pazem, L. & Buck, A.A. Onchocercose in Guatemala ? Microfilariae in urine, blood and spectrum after DEC. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1975, 1, 58-61.
- Anderson, J. & Font, R.L., Ocular onchocerciasis. Pathology of Tropical and Extraordinary diseases. 1976, vol. II (C.H. Binford and D.H.).
- Anderson, J. & Fuglsang, H. Ocular onchocerciasis. Trop. Dis. Bull., 1977, 74, 257.
- Anderson, J., Fuglsang, H., Hamilton, P.J. & Marshall, T. Studies on onchocerciasis in United Cameroon Republic. I. Comparison of populations with and without Onchocerca volvulus. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1974, 68, 190.
- Anderson, J., Fuglsang, H., Hamilton, P.J. & Marshall, T. Studies on onchocerciasis in the United Cameroon Republic. II. Comparison of onchocerciasis in rain forest and Sudan-Saranna. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1974, 68, 209.
- Andrade, Z.A., Andrade, P.G. & Sadinguisky, M. Renal changes in patients with hepatosplenic schistosomiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1971, 20, 77-83.

- Andrade, Z.A. & Surin, M. Renal changes in mice infected with schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1974, 23, 400-403.
- Abresman, C.E. & Ito, K. A new method for measuring IgE. J. Allergy, 1971, 47, 86.
- Axen, R., Porath, J. & Ernback, S. Chemical coupling of peptides and proteins to polysaccharides by means of cyanogen halides. Nature, 1967, 214, 1302-1304.
- Ball, P.A.J. & Bartlett, A. Serological reaction to infection with Necator Americanus. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1969, 63, 362-369.
- Barkas, T., Al-Khated, S.F., Irvine, W.J., Davidson, N. Mc D. & Roscoe, P. Inhibition of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) as a mean of detection of immune complexes in the sera of patients with thyroid disorders and bronchogenic carcinoma. Clin. Exp. Immunol., 1976, 25, 270-279.
- Austen, K.F., Wasserman, S.I. & Goetzl, E.J. Mast cell-derived mediators : structural and functional diversity and regulation of expression. Proceedings 33rd Nobel Symposium. Molecular and Biological Aspects of the Acute Allergic Reaction. Plenum Publishing Corp. New York, 1976, p. 293.
- Ball, P.A., Voller, A. & Taffs, L.F. Hypersensitivity to some nematode antigens. Brit. Med. J., 1971, i, 210-211.
- Bartlett, A. & Bidwell, D.E. Preliminary studies on the application of enzyme immuno assay in the detection of antibodies in onchocerciasis. Tropenmed. Parasit., 1975, 26, 370-374.
- Bartlett, J.L., Turk, J.L., Ngu, J.L., Mackenzie, C.D., Fuglsang, H. & Anderson, J. Variation in delayed hypersensitivity in onchocerciasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1978, 72, 372.
- Bazaral, M., Orgel, A. & Hamburger, R.N. IgE levels in normal infants and mothers and an inheritance hypothesis. J. Immunol., 1971, 107, 794
- Bazin, H., Querinjean, P., Beckers, A., Heremans, J.F. & Dessy, F. Transplantable immunoglobulins-Secreting tumours in rats. IV. Sixty-three IgE-secreting immunocytoma tumours. Immunology, 1974, 26, 713.
- Bennich, H., Ishizaka, H., Ishizaka, T. & Johanson, S.G.O. A comparative antigenic study of E-globulin and myeloma Ig ND. J. Immunol., 1969, 102, 826.
- Bennich, H. & Johansson, S.G.O. Structure and function of human immunoglobulin E. Adv. Immunol., 1971, 13, 1.
- Bennich, H., Johansson, S.G.O., von Bahr-Lindström, H. & Karlson, T. Function and structure of immunoglobulin E (IgE). Proceedings 23rd Nobel Symposium. Molecular and Biological aspects of the Acute Allergic Reaction. Plenum Publishing Corp. New York, p. 175.
- Bekhti, A., Schaaps, J.P., Capron, M., Dessaint, J.P., Santoro, F. & Capron, A. Treatment of hepatic hydatid disease with mebendazole : preliminary results in four cases. Brit. Med. J., 1977, 2, 1047-1051.
- Benveniste, J. Definition expérimentale d'un rôle nouveau pour l'IgE : déclenchement immunologique de la déposition des immuns complexes. Nouv. Presse Med., 1973, 2, 703-706.
- Biguet, J., D'Haussy, R., Capron, A., Tran Van Ky, P. & Aubry, M. Les antigènes d'Onchocerca volvulus. Bull. WHO, 1976, 54, 708-709.

- Biguet, J., Rose, A., Capron, A. & Tran Van Ky, P. Contribution de l'analyse immunoélectrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux. Rev. Immunol., 1965, 29, 5-30.
- Bjorvator, B., Barnetson, R.S., Kronvall, G., Zubler, R.H. & Lambert, P.H. Immune complexes and complement hypercatabolism in patients with leprosy. Clin. exp. Immunol., 1976, 26, 388-396.
- Boreham, P.E.L. & Facer, C.A. Autoimmunity in Trypanosome infections. II. Anti-fibrin fibrinogen (anti-F) autoantibody in Trypanosoma (Trypanozoon) brucei infections of the rabbit. Int. J. Parasitol., 1974, 4, 601-607.
- Bout, D., Dessaint, J.P., Dupas, H., Yarzabal, L. & Capron, A. Characterization of allergens in Schistosoma mansoni, Fasciola hepatica and Echinococcus granulosus. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), 1977, 128C, 687-698.
- Bout, D., Dupas, H., Capron, M., El Gazoui, A., Carlier, Y., Delacourte, A. & Capron, A. Purification, immunochemical and biological characterization of malate dehydrogenase of Schistosoma mansoni. Immunochemistry, 15, 633-638. 1977
- Block, K.J. The anaphylactic antibodies of mammals including man. Progr. Allergy, 1967, 10, 84.
- Bourree, P., Passeron, J., Molimard, R. & Bouvier, J.B. Sensibilisation du test à la notézine dans l'onchocercose (à propos de 25 cas personnels). Ann. Med. Int. (Paris), 1976, 127, 831-835.
- Buck, A.A., Anderson, R.L., Kowata, K. & Hitchcock, Jr C. Onchocerciasis: Some new epidemiological and clinical findings. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1969, 18, 217.
- Bout, D., Santoro, F., Carlier, Y., Bina, J.C. & Capron, A. Circulating immune complexes in schistosomiasis. Immunology, 1977, 33, 17-22.
- Brito, T. de, Gunji, J., Camargo, M.E., Ceravolo, A. & Silva, L.E. da. Glomerular lesions in experimental infections of Schistosoma mansoni in cebus appella monkeys. Bull. Wld Hlth Org., 1971, 45, 419-422.
- Brown, K.N. Immunity to parasite. Nature, 1976, 259, 525-526.
- Bryceson, A.D., Van Veen, K.S., Oduloju, A.J. & Duke, B.O.L. Antigenic diversity among Onchocerca volvulus in Nigeria, immunological differences between onchocerciasis in savanna and forest of cameroon. Clin. Exp. Immunol., 1976, 24, 168.
- Buck, A.A. Onchocerciasis. Symptomatology, pathology, diagnosis. Bull. WHO, 1974.
- Buck, A.A., Anderson, R.E. & Maecae, A.A. Serum immunoglobulin levels in five villages of the Republic of Chad and in onchocerciasis patients with or without microfilariae. Z. Tropenmed. Parasitol., 1973, 24, 21.
- Butterworth, A.E., Sturrock, R.F. & Houba, V. Eosinophils as mediators of antibody dependent damage to schistosomule. Nature, 1975, 256, 727-729.
- Buck, A.A., Anderson, R.I., Colstron, Jr J.A.C., Wallace, C.K., Connor, D.H., Harman, Jr L.E., Donner, M.W. & Ganley, J.P. Microfilaremia in onchocerciasis. Bull. W.H.O., 1971, 45, 353-369.

- Camus, D., Carlier, Y., Capron, M., Bina, J.C., Figueiredo, J.F.M., Prata, A. & Capron, A. Immunological studies in human schistosomiasis. III. Immunoglobulins levels, antibodies, and delays hypersensitivity. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1977, 26, 482-490.
- Capron, A., Gentilini, M. & Vernes, A. Le diagnostic immunologique des filarioses. Possibilités nouvelles offertes par l'immuno-électrophorèse. Path. Biol., 1968, 16, 1039-1045.
- Capron, A., Biguet, J., Rose, F. & Vernes, A. Les antigènes de Schistosoma mansoni. II. Etude immunoélectrophorétique comparée de divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de S. mansoni. Ann. Inst. Pasteur, Paris, 1965, 109, 798.
- Capron, A., Biguét, J., Vernes, A. & Afchain, D. Structure antigénique des helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. Path. Biol., 1968, 121, 138.
- Capron, M. & Capron, A. Immune effector function of eosinophils : Role of anaphylactic antibodies and mast-cells. "The host-Invader Interplay" ed. H. Van Den Boosche. Proceedings third interon. Symposium Biochemistry of Parasites and host-parasite. Beerse, 1980, p. 495-498.
- Capron, A., Dessaint, J.P., Joseph, M., Rousseaux, R., Capron, M. & Bazin, H. Interaction between IgE complexes and macrophages in the rat : a new mechanism of macrophages activation. Eur. J. Immunol., 1977a, 7, 315-322.
- Capron, A. & Dessaint, J.P. A role for IgE in protective immunity. I.R.C.S. J. Med. Sci., 1977, 3, 477.
- Capron, A., Dessaint, J.P., Joseph, M., Torpier, G., Capron, M., Rousseaux, R., Santoro, F. & Bazin, H. IgE and cells in schistosomiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1977, 26,
- Capron, A., Dessaint, J.P., Capron, M. & Bazin, H. Specific IgE antibodies in immune adherence of anormal macrophages to Schistosoma mansoni schistosomules. Nature, 1975, 253, 474.
- Capuccinelli, P., Frentzel-Beyme, R.R., Sena, L. & Cavallo, G. Immunoglobulins and parasitic infection. I. Levels of IgG, IgA and IgM and IgD in different protozoal and helminthic infections in man. C. Batt. Virol., 1971, 64, 155.
- Carlier, Y., Bout, D., Bina, J.C., Camus, D., Figueiredo, J.F.M. & Capron, A. Immunochemical studies in human schistosomiasis. I. Parasitic antigen in urine. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1975, 24, 949-954.
- Carlier, Y., Bout, D. & Capron, A. Detection of Schistosoma mansoni M antigen in circulating immune-complexes and in kidneys of infected hamsters. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, 74, 534-538.
- Carlier, Y., Bout, D., Streeker, G., Debray, H. & Capron, A. Purification, immunochemical and biologic characterization of the Schistosoma circulating M antigen. J. Immunol., 1980, 124, 2442-2450.
- Carlier, Y., Nzeyimana, H., Bout, D. & Capron, A. Evaluation of circulating antigen by a sandwich radioimmunoassay, and of antibodies and immune complexes, in Schistosoma mansoni infected african parturients and their newborn children. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1980, 29, 74-81.
- Carpentier, N.A., Zubler, R.H., Langer, G.T., Lambert, P.H. & Niescher, P.A. Complexes immuns circulants dans les leucémies humaines. Schweiz. med. Wschr., 1976, 106, 1363-1364.

- Carson, D., Metzger, H. & Bazin, H. A simple radio-immunoassay for the measurement of human or rat IgE levels by ammonium sulfate precipitation. J. Immunol., 1975, 115, 561.
- Catty, D., The immunology of nematode infections; Trichinosis in guinea-pigs as a model. In "Monographs in Allergy", Karger, Basel, New York, 5
- Cavallo, T., Galvanek, E.G., Ward, P.A. & von Lichtenberg, F. The nephropathy of experimental hepatosplenic schistosomiasis. Am. J. Pathol., 1974, 76, 433-445.
- Centifanto, Y.M. & Kaufmann, H.E. A simplified method for measuring human IgE. J. Immunol., 1971, 107, 608.
- Ceska, M., Eriksson, R. & Varga, J. Radio-immunosorbent assay of allergens. J. Allergy Clin. Immunol., 1972, 49, 1.
- Cochrane, C.G. & Hawkins, D. Studies of circulating immune complexes. III. Factors governing the ability of circulating complexes to localize in blood vessels. J. Exp. Med., 1968, 127, 137-154.
- Cochrane, C.G. Mechanism involved in the deposition of immune complexes in tissues. J. Exp. Med., 1971, 134, 75s-89s.
- Connor, D.H., Morrison, N.E., Kerdelvegas, F., Bertoff, H.A., Johnson, F., Tunnidiffe, R., Failing, C.F., Hale, L.N., Lindquist, K., Thornbloom, W., Mc Cormick, J.B. & Anderson, S.L. Onchocerciasis, onchocercal dermatitis, lymphadenitis and elephantiasis in the Ubango territory. Human Pathol., 1971, 1, 553.
- Coutinho, A. & Möller, G. Thymus-independent B-cell induction and paralysis. Adv. Immunol., 1975, 21, 113-236.
- Cochrane, C.G. & Muller-Eberhard, H.J. The derivation of two distinct anaphylatoxin activities from the third and fifth components of human complement. J. Exp. Med., 1968, 127, 371.
- Cassio, P.M., Diez, C., Szarfman, A., Krentzer, E., Candiola, B. & Arana, R.M. Chagasic cardiopathy: demonstration of a serum globulin factor which reacts with endocardium and vascular structures. Circulation, 1974, 49, 13-21.
- Creighton, W.D., Lambert, P.H. & Miescher, P.A. Detection of antibodies and soluble antigen-antibody complexes by precipitation with polyethylene-glycol. J. Immunol., 1973, 111, 1219-1227.
- Curtain, C.C. & Simons, M.J. Tissue binding antibodies in tropical populations. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1972, 66, 292-295.
- Damian, R.T. Common antigens between adult Schistosoma mansoni and the laboratory mouse. J. Parasit., 1967, 53, 60.
- Deelder, A.M., Klapp, H.T.M., Van den Aardweg, C.J.M.J. & Van Meerbeke, E.H. E.M. Schistosoma mansoni: Demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. Exp. Parasitol., 1976, 40, 189-197.
- De Leon, R. & Duke, B.O.L. Experimental studies on the transmission of Guatemalan and West African strains of onchocerca volvulus by Simulium ochraceum, S. metallicum and S. callidum. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 60, 735. 1966
- Delespisse, G., Ishizaka, K. & Kishimoto, T. Rabbit lymphocyte population responding to haptenic and carrier determinants for DNA synthesis. J. Immunol., 1975, 114, 1065.
- Dennert, G. The mechanism of antibody-induced stimulation and inhibition of the immune response. J. Immunol., 1971, 106, 951.

- Dessaint, J.P., Camus, D. & Capron, A. Suppression de l'activité lymphocytaire in vitro par des facteurs produits par Schistosoma mansoni. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur), 1976, 127C, 104.
- Dessaint, J.P., Capron, M., Bout, D. & Capron, A. Quantitative determination of specific IgE antibodies to schistosome antigens and serum IgE levels in patients with schistosomiasis (S. mansoni or S. haematobium). Clin. Exp. Immunol., 1975b, 20, 427.
- Dias da Silva, W., Eisele, J.W. & Lepow, I.H. Complement as a mediator of inflammation. III. Purification of the activity with anaphylatoxin properties generated by interaction of the first four components of complement and its identification as a cleavage product of C3. J. Exp. Med., 1967, 126, 1027.
- Digeon, M., Laver, M., Riza, J. & Bach, J.F. Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays with polyethylene glycol. J. Immunol. Methods., 1977, 16, 165-183.
- Dixon, F.J. Immune complex disease. J. Invest. Dermatol., 1973, 59, 413-415.
- D'Haussey, R., Capron, A., Rolland, A. & Biguet, J. Rapport de l'immunologie à l'épidémiologie de l'onchocercose. Corrélations avec les données parasitologiques et ophtalmologiques. Rev. Immunol., 1972, 36, 55-52.
- Duke, B.O.L. The uptake of the microfilariae of Acanthocheilonema streptocerca by Culicoides grahami and their subsequent development. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1954, 48, 416-420.
- Duke, B.O.L. Experimental transmission of Onchocerca volvulus from man to a chimpanzee. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1962, 56, 271.
- Duke, B.O.L. International symposium on research and control of onchocerciasis in the western hemisphere. Pan. American Health. Organization Publication, 1974, 298, 25.
- Duke, B.O.L. Onchocerca simulium complexes. III. Transmission of a variant of the forest rain of O. volvulus. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1967, 61, 326.
- Duke, B.O.L. & Anderson, J. A comparison of the lesions produced in the cornea of the rabbit eye by microfilariae of the forest and Sudan-savanna strains of Onchocerca volvulus from Cameroon. I. Clinical picture. Z. tropenmed. Parasitol., 1972, 23, 354.
- Duke, B.O.L. & Garner, A. Reactions to subconjunctival inoculation of Onchocerca volvulus microfilariae in pre-immunized rabbit. Z. tropenmed. Parasitol., 1967, 26, 435.
- Duke, B.O.L. & Moore, P.J. The contributions of different age groups to the transmission of onchocerciasis in Cameroon forest village. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1968, 62, 22.
- Duke, B.O.L., Moore, M.J. & De Leon, J.R. Onchocerca simulium complexes. V. The intake and subsequent fate of microfilariae of a Guatemalan strain of O. volvulus in forest and Sudan-savanna forms of West African S. damnosum. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1967, 61, 332.
- Eden, A., Miller, G.W. & Nussenzweig, V. Human lymphocytes bear membrane receptors for C3b and C3d. J. Clin. Invest., 1973, 52, 32-39.
- EI-On, J. & Schawn, L.F. Purification and preliminary characterization of leishmanial excreted factor (EF). J. Protozool., 1974, 21,

- Everett, L.S., Robert, A. & Horacio, F.M. Intradermal reactivity of excretory and secretory products of onchocercal microfilariae. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1980, 29, 1215-1219.
- Feldman, M. & Diener, Antibody mediated suppression of the immune response in vitro. I. Evidence for a central effect. J. Exp. Med., 1970, 131, 247.
- Gazzinelli, G., Mares-Hina, M. & Pellegrino, J. Relation of the main proteolytic fraction of Schistosoma mansoni cercarial enzymes with synthetic substrates and inhibitory of proteolytic enzymes. Exp. Parasit., 1977a, 32, 21.
- Gazzinelli, G., Ramalho-Pinto, F.J. & Pellegrino, J. Purification and characterization of the proteolytic enzyme complex of cercarial extract. Comp. Biochem. Physiol., 1966, 18, 689.
- Gentilini, M., Pinon, M., Niel, J.M. & Davies, M. Etude comparée des réactions de précipitation et d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des filarioses. Bull. Soc. Path. Exot., 1972, 66, 133-139.
- Gentilini, M., Pinon, J.M. & Niel, G. Electroimmunodiffusion sur membrane d'acétate de cellulose. Applications diagnostiques en parasitologie. Bull. Soc. Path. exot., 1972, 65, 60-65.
- Gewurz, H., Pickering, R.J., Mergenhagen, S.G. & Good, R.A. The complement profile in acute glomerulo-nephritis, systemic lupus erythematosus and hypocomplementemia glomerulonephritis. Int. Arch. Allergy, 1968, 34, 556.
- Gibson, D.W. & Connor, D.H. Onchocercal lymphadenitis : Clinicopathologic study of 34 patients. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1978, 72, 137.
- Gidel, R., Breugnot, J. & Rodhain, F. Essai de deux tests immunologiques (intradermoréaction et réaction de fixation du complément) pour le dépistage des filarioses dans des populations de Haute-Volta où existent Wuchereria bancrofti, Onchocerca volvulus et Dipetalonema viteae. Bull. Wld Hlth Org., 1969, 40, 831-842.
- Gleich, G.J., Avenbeck, A.K. & Swedlund, H.A. Measurement of serum IgE in normal and allergic serum by radio-immunoassay. J. Lab. Clin. Med., 1971, 77, 690.
- Gold, R., Rosen, F.S. & Weller, T.H. A specific circulating antigen in hamster infected with Schistosoma mansoni. Detection of antigen in serum and urine, and correlation between antigenic concentration and worm burden. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1969, 18, 545-552.
- Goodger, B.V. Babesia argentina : Intraerythrocytic localisation of babesial antigen extracted from parasite suspensions. Int. J. Parasitol., 1973, 3, 387-391.
- Goodger, B.V. Babesia argentina : Studies on the nature of an antigen associated with infection. Int. J. Parasitol., 1976, 6, 213-216.
- Gomes-Priego, A., Rivas-Acala, R., Sierra, A., Larralde, C. & Beltran, F. Serology of Mexican onchocerciasis : serodiagnosis, correlation with stage of disease, and most prominent antigens. J. Helminthol., 1980,
- Grabar, P. & Burtin, P. Immuno-electrophoretic analysis. Applications to human biological fluids. Amsterdam, Elsevier, 302 pp., 1964.
- Grabar, P. & Williams, C.A. Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéine. Application au sérum sanguin. Biochem. Biophys. Acta, 1953, 10, 193-194.

- Gray, A.R. The influence of antibody on serological variation in Trypanosoma brucei. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1962, 56, 4-13.
- Greeve, B.M., Taylor, H.R., Humphrey, R.L. & Lowley, T.J. Circulating immune complexes in onchocerciasis significance and influence of diethylcarbamazine therapy. Clin. Res., 1980, 28, 370A.
- Greenwood, B.M. Immunosuppression in malaria and trypanosomiasis. in "Parasites in the immunized host : Mechanisms of survival". Associated Scientific Publ., Amsterdam, 1974.
- Greenwood, B.M. Autoimmune disease and parasitic infections in Nigerians. Lancet, 1968, II, 380-382.
- Greenwood, B.M. & Herrick, E.M. Low incidence of rheumatoid factor and autoantibodies in Nigerian patients with rheumatoid arthritis. Brit. Med. J., 1970, 1, 71-73.
-
- Greenwood, F.C., Hunter, W.M. & Glover, J.S. The preparation of ¹³¹I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. Biochemistry, 1963, 89, 114.
- Greenwood, B.M., Muller, A.S. & Valkenburg, A. Rheumatoid factor in nigerian sera. Clin. Exp. Immunol., 1971, 8, 161-173.
- Greenwood, B.M. & Vick, R.M. Evidence for a malaria mitogen in human malaria. Nature (Lond), 1975, 257, 592-594.
- Greenwood, B.M., Whittle, H.C. & Molyneux, D.H. Immunosuppression in gambian trypanosomiasis. Trans: R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1979, 67, 846-850.
-
- Grove, D.I. & Forkes, I.J. Immunosuppression in bancroftan filariasis. Trans: Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1979, 73, 23.
- Guesdon, J.L. & Avrameas, S. Polyacrylamide agarose beads for the preparation of effective immunoadsorbents. J. Immunol. Meth., 1976, 11, 129.
- Guesdon, J.L., Thierry, R. & Avrameas, R. & Avrameas, S. A simple immunoenzymatic method for measuring IgE in human sera. Clin. Exp. Immunol. 1976, 25, 180.
-
- Guerra-Caceres, J.G., Bryceson, A.D.M., Quakyi, I. & Siny, C.J.F. Studies on the mechanisms of adverse reactions produced by diethylcarbamazine in patients with onchocerciasis. Mazzotti secretion. Parasit. Immunol., 1980, 2, 121.
- Gunnar, S., Johanson, S.G.O., & Juhlin, L. Immunoglobulin E in "healed atopic dermatitis and after treatment with corticosteroids and azathioprine. Brit. J. Dermatol., 1970, 82, 10-13.
-
- Gurevitch, A.W., Heiner, D.C. & Reisner, R.M. IgE in atopic dermatitis and other common dermatoses. Arch. Dermatol., 1973, 107, 712-715.
-
- Hamonaka, T., Katz, D.H. & Benacerraf, B. Hapten-specific IgE antibody responses in mice. II. Cooperative interactions between adoptively transferred T and B lymphocytes in the development of IgE response. J. Exp. Med., 1973, 138, 538.
- Hamonaka, T., Katz, D.H., Bloch, K.J. & Benacerraf, B. Hapten-specific IgE antibody responses in mice. I. Secondary IgE responses in irradiated recipients of syngenic primed spleen cells. J. Exp. Med., 1973b, 138, 306.

- Hamilton, R.G., Hussain, R., Ottessen, E.A. & Adkiuson, N.F. The quantitation of parasite-specific human IgG and IgE in sera : evaluation of solid phase RIA and ELISA methodology. J. Immunol. Meth., 1981,
- Haque, A., Joseph, M., Ouaisi, A., Capron, M. & Capron, A. IgE antibody-mediated cytotoxicity of rat macrophages against microfilariae of Dipetalonema viteae in vitro. Clin. Exp. Immunol., 1980, 40, 487-495.
- Haque, A., Ouaisi, A., Joseph, M., Capron, M. & Capron, A. IgE antibody in Eosinophil and macrophage-mediated in vitro killing of Dipetalonema viteae microfilariae. J. Immunol., 1981, 127, 716-725.
- Hay, F.C., Ninehour, L.J. & Roitt, I.M. Ronbime assay for the detection of immune complexes of known immunoglobulin class using solid phase Clq. Clin. Exp. Immunol., 1976, 24, 396-400.
- Heiner, D.C. & Rosé, B. Elevated level of E (IgE) in conditions other than classical allergy. J. Allergy, 1970, 45, 30-42.
- Hellström, K.E. & Hellström, I. Lymphocyte-mediated cytotoxicity and blocking serum activity to human antigens. Adv. Immunol., 1974, 18, 209-225.
- Henson, P.M. Mechanism of release of constituents from rabbits platelets by antigen-antibody complexes and complement. I. Lytic and non lytic reactions. J. Immunol., 1970, 105, 476-489.
- Henson, P.M. Interaction of cells with immune complexes : adherence, release of constituents and tissue injury. J. Exp. Med., 1971, 134, 114s-135s.
- Henson, P.M. & Cochrane, G.G. Acute immune complex disease in rabbits : the role of complement and of a leucocyte dependent release of vasoactives amines from platelets. J. Exp. Med., 1971, 133, 554-571.
- Herreman, G., Godeau, P., Cabana, J. Digeon, M., Lover, M. & Bach; J.F. Etude immunologique des endocardites infectieuses subaiguës par recherches de complexes immuns circulants. Nouv. Presse Med., 1975, 4, 2311-2314.
- Hillyer, C.V. DNA and antibodies to DNA in the serum of hamsters and man infected with schistosomes. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1971, 136, 880.
- Hillyer, G.V. & Lewert, R.M. Studies on renal pathology in hamsters infected with Schistosoma mansoni and S. japonicum. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1974, 23, 404-411.
- Hogarth-Scott, R.S. Rabbit reagin-like antibodies. Int. Arch. Allergy, 1967a, 32, 201.
- Hogarth-Scott, R.S., Howlett, B.I., Mc Nicol, K.N., Simons, M.J. & Williams, H.E. IgE levels in the sera of asthmatic children. Clin. Exp. Immunol., 1971, 9, 571-576.
- Hogarth-Scott, R.S., Johansson, S.G.O. & Bennich, H. Antibodies to Toxocara in sera of visceral larva migrans patients : the significance of raised levels of IgE. Clin. Exp. Immunol., 1969, 5, 619-625.
- Hoshimo-Shimizu, S., de Brito, T., Kassamura, H.Y., Canto, A.L., Silva, A.O. Campos, A.R., Penna, D.O. & Silva, L.C. Human schistosomiasis : Schistosoma mansoni antigen detection in renal glomeruli. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1976, 70, 492-496.
- Huber, H., Polley, M.J., Linscott, W.D., Fudenberg, H.H. & Muller-Eberhard, H.J. Human monocytes : distinct receptor sites for the third component of complement and for immunoglobulin G. Science, 1968, 162, 1281-1283.

- Holm, G., Engwall, E., Hammarstrom, S. & Natvig, J.B. Antibody-induced hemolytic activity of human blood monocytes. Scand. J. Immunol., 1974, 3, 173-180.
- Hoshimo-Shimizu, S., Brito, T. de, Canto, A.L., Kanamura, H.Y. & Silva, L.C. da. Detection of schistosomal antigen (S. mansoni) in human kidneys obtained at autopsy. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 1975, 17, 394.
- Houba, V. & Williams, A.I.O. Soluble serum antigens of P. falciparum in Nigerians. African J. Med. Sci., 1972, 3, 309-317.
- Houston, W.E., Pedersen, C.E. Jr, Hole, F.E. Jr & Spertzel, R.O. Effects of antigen-antibody complexes on the primary immune response in Rhesus monkeys. Infect. Immunol., 1974, 10, 437.
- Huber, H., Douglas, S.D., Nusbacher, J., Kochwa, S. & Rosenfield, R.E. IgG subclasses specificity of human monocyte receptors sites. Nature, 1971, 229, 419.
- Huldt, G., Johanson, S.G.O. & Lantto, S. Echinococcosis in Northern Scandinavia. Immune reactions to Echinococcus granulosus in Kantokeino lappa. Arch. Environ. Health, 1973, 26, 36.
- Hussain, R., Hamilton, R.G., Kumaraswami, H., Franklin, N., Adkinson, J.R. & Ottessen, E.A. IgE responses in human filariasis. I. Quantitations of filariae specific IgE. J. Immunol., 1981, 127, 1622.
- Husson, R.A. & Sehneida, J. La réaction de fixation du complément dans le diagnostic des filarioses. Bull. Soc. Path. Exot., 1958, 51, 960-967.
- Ishizaka, K. Cellular events in the IgE antibody response. Adv. Immunol., 1976, 23, 1.
- Ishizaka, K. & Ishizaka, T. Reversed type allergic skin reactions by anti-E globulin antibodies in human and monkeys. J. Immunol., 1968a, 100, 554.
- Ishizaka, K. & Ishizaka, T. Induction of erythema-wheal reactions by soluble antigen-E antibody complexes in humans. J. Immunol., 1968b, 101, 68.
- Ishizaka, K., Ishizaka, T. & Hornbrook, M.M. Physicochemical properties of human reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. J. Immunol., 1966a, 97, 75.
- Ishizaka, K., Ishizaka, T. & Hornbrook, M.M. Physicochemical properties of human reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with IgE antibody. J. Immunol., 1966b, 97, 840.
- Ishizaka, K., Ishizaka, T. & Tada, T. Immunoglobulin E in monkey. J. Immunol., 1969, 103, 445.
- Ishizaka, T., Ishizaka, K. & Tomioka, H. Release of histamine and low reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by IgE anti-IgE reactions on monkey mast cells. J. Immunol., 1972, 108, 513.
- Ishizaka, K. & Okudaira, H. Reaginic antibody formation in the mouse. II. Enhancement and suppression of anti-hapten antibody formation by priming carrier. J. Immunol., 1973, 109, 84.
- Ishizaka, K., Tomioka, H. & Ishizaka, T. Mechanisms of passive sensitization. I. Presence of IgE and IgG molecules on human leukocytes. J. Immunol., 1970, 105, 1459.

- Ito, K., Sawada, T. & Sato, S. Increased serum IgE level in individuals infected with Schistosoma japonicum, Wuchereria bancrofti or hook-worm, and the changes treatment in schistosomiasis. Jap. J. Exp. Med., 1972, 42, 115.
- Jarrett, E.E.E. Potentiation of reaginic (IgE) antibody to ovalbumin in the rat following sequential Trematode and Nematode infections. Immunology, 1972, 22, 1099.
- Jarrett, E.E.E., Haig, D.M. & Bazin, H. Time course studies on rat IgE production in N. brasiliensis infection. Clin. Exp. Immunol., 1974, 24, 346.
- Jarrett, E.E.E. & Kerr, J.W. Thread-worms and IgE in allergic asthma. Clin. Allergy, 1973, 3, 203.
- Jarrett, E.E.E. & Stewart, D.C. Rat IgE production. I. Effect of dose antigen on primary and secondary reaginic antibody responses. Immunology, 1974, 27, 365.
- Johansson, S.G.O. & Bennich, H. Studies in a new class of human immunoglobulins. I. Immunological properties. In "Killander Ed., Gamma Globulins" (Nobel Symposium 3). p. 193-197. Almqvist and Wiksell, Stockholm.
- Johansson, S.G.O., Bennich, H. & Wide, L. A new class of immunoglobulins in human serum. Immunology, 1968, 14, 381.
- Johansson, S.G.O., Mellbin, T. & Vahlquist, P. Immunoglobulin levels in Ethiopian preschool children with special reference to high concentration of immunoglobulin E (IgND). Lancet, 1968, 1, 1118.
- Johansson, S.G.O. & Bennich, H. Immunological studies of an atypical (myeloma) immunoglobulin. Immunology, 1967, 13, 381.
- Jones, V.E., Edwards, A.J. & Ogilvie, B.M. The circulating immunoglobulins involved in protective immunity to the intestinal stage of Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Immunology, 1970, 18, 621-633.
- Kagan, I.G. A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis. J. Parasit., 1963, 49, 773-798.
- Kellermeyer, R.W., Warren, K.S., Waldmann, T.S., Cook, J.A. & Jordon, P. Concentration of serum immunoglobulins in St Lucian with schistosomiasis mansoni compared with matched uninfected St Vincentians. J. Infect. Dis., 1973, 127, 557.
- Kershaw, W.E., Buke, B.O.L. & Budden, F.H. Distribution of microfilariae of Onchocerca volvulus in the skin. Its relation to skin changes and to eye lesions and blindness. Brit. Med. J., 1954, 2, 724-729.
- Kishimoto, T. & Ishizaka, K. Regulation of antibody response in vitro VII. Enhancing soluble factors for IgG and IgE antibody response. J. Immunol., 1973, 111, 1194.
- Kishimoto, T. & Ishizaka, K. Regulation of antibody response in vitro VIII. Multiplicity of soluble factor released from carrier-specific cells. J. Immunol., 1974, 112, 1685.
- Kojima, A., Tamura, S.I., Egashira, Y. Regulatory mechanism of delayed-type hypersensitivity in mice. I. Properties of memory cells and suppressor cells for delayed-type hypersensitivity against ovalbumin. Cell. Immunol., 1979, 45, 61-73.

- Kojima, S. & Ovary, Z. Effect on *N. brasiliensis* infection on anti-hapten IgE antibody response in the mouse. I. Induction of carrier specific helper cells. Cell. Immunol., 1975a, 15, 274.
- Kojima, S. & Ovary, Z. Effect of *N. Brasiliensis* infection on anti-hapten IgE antibody response to a heterologous hapten-carrier conjugate. Cell. Immunol., 1975b, 17, 383.
- Kojima, S., Yogogawa, M. & Tada, T. Raised levels of serum IgE in human helminthiasis. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1972, 21, 913.
- Konttinen, S. & Mitchinson, N.P. Blocking antigen-antibody complexes on the T lymphocyte surface identified with defined proteins antigens. I. Lymphocyte activation during in vitro incubation before adoptive transfer. Immunology, 1975, 28, 523-533.
- Kunkel, H.G., Muller-Sherhard, H.J., Fudenberg, H.H. & Tomasi, T.B. Gamma-globulin complexes in rheumatoid arthritis and certain other conditions. J. Clin. Invest., 1961, 40, 117-129.
- Kurata, M. Auto-immunity in schistosomiasis japonica. Kurume med. J., 1966, 13, 177-192.
- Lagrange, P.H. & Kaness, G.B. A stable form of delayed-type hypersensitivity. J. Exp. Med., 1975, 141, 82-96.
- Laissue, J., Cottier, H., Hess, M.W. & Stoner, R.D. Early and enhanced germinal centre formation and antibody responses in mice after primary stimulation with antigen-isologous antibody complexes as compared with antigen alone. J. Immunol., 1971, 107, 822.
- Lambert, P.H., Creighton, D., Goodman, P., Bankhurst, A. & Miescher, P.A. Approche expérimentale de la pathogénie du lupus érythémateux. J. Urol Nephrol., 1972, 78, 973-1003.
- Lambert, P.H. & Dixon, F.J. Pathogenesis of the glomerulonephritis of NZB/W mice. J. Exp. Med., 1968, 127, 507-522.
- Lambert, P.H., Dixon, F.J., Zubler, R.H., Agnello, V., Cambiaso, C. & Verroust, P. A WHO collaborative study for the evaluation of eighteen methods for detecting immune complexes in serum. Clin. Lab. Immunol., 1978, 1, 1.
- Lambert, P.H. & Houba, V. Immune complexes in parasitic disease. in "Progress in Immunology" Eds L. Brent et J. Holborow, vol. 5, pp. 57-57, Amsterdam, 1974.
- Lambert, P.H., Tribollet, E., Knoepfel, M., Madalinski, K. & Miescher, P.A. PEG test : a new radioimmunoassay for the detection of hepatitis B antigen. Schweiz-Med. Wschr., 1974, 14, 128-129.
- Lagraulet, J. Etude des biopsies cutanées et de la réaction de Mazzotti chez les onchocerci examinés en France. Bull. Soc. Path. Exot., 1971, 64, 231-237.
- Le Bras, J., Duchatelle, C., Payet, M. & Savel, J. Comparaison des résultats obtenus à partir d'antigènes homologues et hétérologues dans l'étude immunologique de l'onchocercose et de la dracunculose. Bull. Soc. Path. Exot., 1977, 70, 515-524.
- Levine, B.B. The nature of the antigen-antibody complexes which initiate anaphylactic reactions. I. A quantitative comparison of the abilities of non toxic univalent, toxic univalent and multivalent benzylpenicilloyl haptens to evoke passive cutaneous anaphylaxis in the guinea pig. J. Immunol., 1965, 94, 111.

- Levine, B.B. Genetic factors in reagin production in mice. In "Biochemistry of the Acute Allergic Reactions" (Austen; K.F. and Becker, E.L., Eds), Blackwell, Oxford, 1971, p. 1.
- Levine, B.B., Stember, R.H. & Fotino, M. Ragweed hay fever : genetic control and linkage to HLA haplotypes. Science, 1972, 173, 1201.
- Levine, B.B., Stember, R.H. & Fotino, M. Ragweed hay fever : genetic control and linkage to HLA haplotypes. Science, 1972, 173, 1201.
- Lichtens, L.M. & Osler, A.G. Studies on the mechanism of hypersensitivity phenomena. IX. Histamine release from human leukocytes in ragweed pollen antigen. J. Exp. Med., 1964, 120, 507.
- Lichtenberg, F. Von, et al.
Am. J. Trop. Med. Hyg., 1971, 20, 850.
- Lindsley, H.B., Kyrela, S. & Steinberg, A.A. Nucleic acid-antibodies in African trypanosomiasis : studies in rhesus monkeys and man. J. Immunol., 1974, 113, 1921-1927.
- Lobuglio, A.F., Cotran, R.S. & Jandl, J.H. Red Cells coated with immunoglobulin G : binding and sphering by mononuclear cells in man. Science, 1967, 158, 1582.
- Lucasse, Chr. Fluorescent antibody test for onchocerciasis. Z. Tropenmed. Parasit., 1962, 13, 404-408.
- Mackenzie, A.R., Boreham, P.F.L. & Facer, C.A. Non-trypanosome specific components of the elevated IgM levels in rabbit trypanosomiasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1972, 66, 344-345.
- Mackenzie, A.R. & Facer, C.A. Autoimmunity in trypanosome infections. II. Antifibrin/fibrinogen (anti-F) autoantibody in Trypanosoma brucei infections of the rabbit. Int. J. Parasit., 1974, 4, 601-607.
- Mackenzie, C.D. & Ngu, J.L. A consideration of the clinical, immunopathological and immunodiagnostic aspects of human onchocerciasis. Quant. Rev. Cameroon Med. (Cameroon Med. J. Suppl.), 15
- Mackenzie, C.D. Eosinophil leucocyte in filarial infections. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, 74, 51.
- Mackenzie, C.D., Sierra, A., Ortiz-Ortiz, L. & El-Streik, H. Variation in cell-mediated responsiveness in human onchocerciasis. Z. Tropenmed. Parasitol., 1982, in press.
- Mandlowitz, S., Dusanic, D. & Lewert, R.M. Peptidase and lipase activity of extracts of Schistosoma mansoni cercariae. J. Parasit., 1966, 46, 89.
- Mansfield, S.M. & Kreir, J.P. Auto-immunity in experimental Trypanosoma congolense infections of rabbits. Infect. Immun., 1972, 5, 648-656.
- Marsh, D.G., Bias, W.B., Hsu, S.H. & Goodfriend, L. Association of the HLA7 cross reacting group with a specific reaginic antibody response in allergic man. Science, 1973, 179, 691.
- Mayrhofer, G., Bazin, H. & Gowans, J.L. Nature of cells binding anti-IgE in rats immunized with Nippostrongylus brasiliensis : IgE synthesis in regional nodes and concentration in mucosal mast cells. Eur. J. Immunol., 1976, 6, 587.
- Mazzotti, L. Presencia demicrofilarias de Onchocerca volvulus en el liquido cefalo-raquides de enfermos tralcados con hemazan. Rev. Inst. Salubry Enferm. Trop. 1959, 19, 1-5.

- Mazzotti, Posibilidad de utilizar como medio diagnostico auxiliar en la oncocercosis alergicas consecutivas a la administracion del "Hetrazan". Rev. Inst. Salub. Eufom. Trop., 1948, 9, 235.
- Mc Colm, A.A., Shakespeare, P.G. & Trigg, P.I. Release of protein of erythrocytic stages of Plasmodium knowlesi cultivation in vitro. Bull. WHO, 1977.
- Mc Conahy, P.J. & Dixon, F.J. A method for trace iodination of proteins for immunologic studies. Int. Arch. Allergy, 1966, 29, 185.
- Mc Gregor, I.A. & Barr, M. Antibody response to tetanus toxoid inoculation in malarious and non malarious gambian children. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1962, 36, 364-367.
- Mc Loughlan, P. The development of radio-immunoassays for the study of skin sensitizing antibodies (IgE). Birmingham M., 1971, Sc Thesis.
- Mc Lennan, I.C.M. Competition for receptors for immunoglobulin on cytotoxic lymphocytes. Clin. Exp. Immunol., 1972, 101, 275-283.
- Mc Kaness, G.B., Lagrange, P.H., Miller, T.E. & Ishibashi, H.R. Feedback inhibition of specifically sensitized lymphocytes. J. Exp. Med.,
- Michael, A.F. Jr, Drummond, K.M., Good, R.A. & Vernier, R.L. Acute post-streptococcal glomerulonephritis: immune deposit disease. J. Clin. Invest., 1966, 45: 237-248.
- Morgan, E.L. & Tamplis The role of antigen-antibody complexes in mediators immunologic unresponsiveness in the chicken. J. Immunol., 1977, 199, 1293-1298.
- Mota, I., Wong, D., Sadun, E.H. & Gore, R.W. Mouse homocytotropic antibodies. In "Cellular and humoral mechanisms in anaphylaxis", Karger, Bâle, 1969b, p. 23.
- Mota, I., Sadun, E.H., Bradshaw, R.M. & Gore, R.W. The immunological response of mice infected with Trichinella spiralis. Biological and physicochemical of two homocytotropic antibodies. Immunology, 1969a, 16, 71.
- Müller-Eberhard, H.J. Complement. Ann. Rev. Biochem., 1969, 38, 389-414.
- MÜLLER-Eberhard, H.J. Complement. Ann. Rev. Biochem., 1975, 44, 697-724.
- Nash, T.E. Localization of the circulating antigen within the gut of Schistosoma mansoni. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1974, 23, 1085-1087.
- Nash, T.E., Prescott, B. & Neva, F.A. The characteristics of a circulating antigen in schistosomiasis. J. Immunol., 1974, 112, 1500-1507.
- Natali, P.G. & Cioli, D. Immune complex nephritis in mice infected with Schistosoma mansoni. Fed. Proc., 1974, 33, 757.
- Natali, P.G. & Cioli, C. Immune complexes nephritis in Schistosoma mansoni infected mice. Eur. J. Immunol., 1976, 6, 359-364.
- Nelson, G.S. Onchocerciasis. Adv. Parasitol., 1970, 8, 173.
- Neva, F.A., Keplan, A.P., Pachico, G., Gray, L. & Damaraj, T.J. A human model of parasitic immunopathology with observations on serum IgE levels before and after treatment. J. Allergy Clin. Immunol., 1975, 55, 422.
- Ngu, J.L. Immunological studies on onchocerciasis. Acta Trop. (Basel), 19, 35, 269.

- Ngu, J.L. & Blackett, R. Immunological studies in onchocerciasis in Cameroon. Trop. Geograph. Med., 1976, 111-120.
- Nowoslawski, A., Rhawezynshy, K., Brzosko, W.J. & Madalinski, K. Tissue localisation of Australia antigen immune complexes in acute and chronic hepatitis and liver cirrhosis. Amer. J. Pathol., 1972, 63, 31
- Nnochini, E. Observations in onchocercal lesions seen in autopsy specimens in Western Nigeria. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1964, 58, 89.
- Nydegger, U.E., Lambert, P.H., Gerber, H. & Miescher, P.A. Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and in carriers of hepatitis B antigen. Quantitation by binding to radiolabelled Clq. J. Clin. Invest., 1974, 54, 297-309.
-
- Ogilvie, B.M. Reagin-like antibodies in animals immune to helminth parasites. Nature, 1964, 204, 91.
- Ogilvie, B.M. & Jones, V.E. Reagin antibodies and immunity to Nippostrongylus brasiliensis in the rat. I. The effect of thymectomy, neonatal infections and splenectomy. Parasitology, 1967, 57, 335.
- Okabe, K. & Tamaka, T. Urine precipitin reaction for schistosomiasis japonica. Ku. Med. J., 1961, 8, 24-37.
- Okudaira, H. & Ishizaka, K. Reaginic antibody formation in the mouse. III. Collaboration between hapten-specific memory cells and carrier-specific helper cells for secondary anti-hapten antibody formation. J. Immunol., 1973, 111, 1420.
- Okudaira, H. & Ishizaka, K. Reaginic antibody formation in the mouse. IV. Adoptive anti-hapten IgE antibody response in irradiated recipients of hapten-primed cells and carrier-specific cells. J. Immunol., 1974, 113, 563.
- Okumura, K. & Tada, T. Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. III. Effect of thymectomy and splenectomy. J. Immunol., 1977a, 106, 1019.
- Okumura, K., Tada, T. & Ochiai, T. Effect of anti-thymocyte serum on reaginic antibody formation in the rat. Immunology, 1974, 26, 257.
-
- Oldstone, M.B.S., Theofilopoulos, A.N., Gunven, P. & Klein, G. Immune complexes associated with neoplasia: presences of Epstein-Barr virus antigen antibody complexes in Burkitt's lymphoma. Intervirology, 1975, 4, 292-302.
-
- Oldstone, M.B.A. Virus neutralization and virus induced immune complex disease. Virus-antibody union resulting in immunoprotection or immunologic injury-two sides of the same coin. Progr. med. Virol., 1975, 19, 84-119.
-
- O.M.S. Serie de rapports techniques, n°579, 1975.
-
- O.M.S. Epidemiology of Onchocerciasis. Technical series, 1976, N°597.
- Oppenheim, J. Modulation of in vitro lymphocyte transformation by antibodies: enhancement by antigen-antibody complexes and inhibition by antibody excess. Cell. Immunol., 1972, 3, 341-360.
-
- Ouchterlony, O. Diffusion in gel methods for immunological analysis. Progr. Allergy, 1958, 5, 1-78.
- Ottson, E.A., Neva, F.A., Parangape, I., Tripathy, K.V., Thiruvangadam & Beaven, MA. Specific allergic sensitization to filarial antigen in tropical eosinophilia syndrome. Lancet, 1979, i, 1158.

- Osler, A.G., Lichtenstein, L.M. & Ledy, D.A. In vitro studies of human reaginic allergy. Adv. Immunol., 1968, 8, 183.
- Patterson, R. Laboratory models of reaginic allergy. Prog. Allergy, 1969, 13, 332.
- Paganelli, R., NGu, J.L. & Levinsky, R.J. Circulating immune complexes in onchocerciasis. Clin. exp. Immunol., 1980, 39, 570.
- Penttinen, K., Uaheni, A. & Myllylä, G. Detection and characterization of immune complexes in the platelet aggregation test. I - Complexes formed in vitro. Clin. exp. Immunol., 1971, 8, 389.
- Perrudet-Badoux, A., Binaghi, R.A. & Boussac-Aron, Y. Production of different classes of immunoglobulins in rats infested with Trichinella spiralis. Immunochemistry, 1976, 13, 443.
- Perrin, L.H., Lambert, P.H. & Miescher, P.A. Properdin levels in systemic lupus erythematosus and membranoproliferative glomerulonephritis. Clin. exp. Immunol., 1974, 16, 575-581.
- Phillips, T.M. & Draper, C.C. Circulating immune complexes in schistosomiasis due to Schistosoma mansoni. Brit. Med. J., 1975, ii, 476-477.
- Picq, J.J., Goz, J. & Jardel, J.P. Une méthode d'évaluation des densités microfilariennes d'Onchocerca volvulus Leuckart, 1893, chez les onchocerquiens : technique et temps de lecture des biopsies cutanées. Bull. Org. Mond. Santé, 1971, 45, 517-520.
- Picq, J.J. & Roux, J. Faits nouveaux dans l'onchocercose : la microfilarémie Sa répartition géographique, ses rapports avec les densités microfilariennes, cutanées, l'albuminurie et la chimiothérapie. Med. Trop., 1973, 33, 451-569.
- Pinon, J.M. & Gentilini, M. Intérêt de l'utilisation du teepol dans les réactions d'immunofluorescence indirecte en vue d'élimination des réactions croisées dans le diagnostic des filarioses. Bull. Soc. Path. exot., 1972, 65, 306-308.
- Ponnudurai, T., Denham, D.A., Nelson, G.S. & Rogers, R. Studies with Brugia pahangi. 4. Antibodies against adult and microfilarial stages. J. Helminthol., 1974, 48, 107-111.
- Prägnitz, C. & Küstner, H. Studies über die Überempfindlichkeit. Zbl. Bakt., 86, 160.
- Prouvost-Danon, A., Wyezolkowska, J., Binachi, R. & Abadie, A. Mouse and rat IgE-cross sensitization of mast cells and antigenic relationships. Immunology, 1975, 29, 151.
- Queiroz, F.P., Brito, E., Martinelli, R. and Rocha, H. Nephrotic syndrome in patients with Schistosoma mansoni infections. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1973, 22, 622-628.
- Revolta, R. & Ovary, Z. Preferential production of rabbit reaginic antibodies. Int. Arch. Allergy, 1969, 36, 282.
- Revolta, R., Pediconi, M., Bertolini, L. & Bosman, C. In vitro immune response by murine bone, marrow cells stimulated against soluble immune complexes. Cell. Immunol., 1975, 20, 117-132.
- Rodger, F.C. The effect of heavy parasite loads of O. volvulus on human optic nerve. Helminthol. Bratislava, 1973, 14, 39.

- Rose, G., Biguet, J., Rose, F. & D'Haussy, R. Application d'une réaction d'hémagglutination au diagnostic de l'onchocercose. Rev. Hyg. Med. Soc., 1966, 14, 383-392.
- Rosenberg, E.B., Strickland, G.T., Yang, S.L. & Whalen, G.E. IgM antibodies to red cells and autoimmune anemia in patients with malaria. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1973, 22, 146-152.
- Ross, G.D. & Polley, M.J. Human lymphocyte and granulocyte receptors for the fourth component (C4) and the role of granulocyte receptors in phagocytosis. Fed. Proc., 1974, 33, 759.
- Rossen, R.D., Reisberg, M.A., Singer, D.B., Schloeder, F.X., Suki, W.N., Hill, L.L. & Eknoyan, G. Soluble complexes in nephritis.
- Rothwell, T.L.W. & Dineen, J.K. Cellular reactions in guinea pig following primary and challenge infection with Trichostrongylus colubriformis with special reference to the roles played by eosinophils and basophils in rejection of the parasites. Immunology, 1972, 22, 733-743.
- Rousseau-Baelde, M. & Janssens, P.G. Le diagnostic des filarioses humaines à l'aide de la réaction de fixation de complément. Ann. Soc. belge Méd. Trop., 1961, 41, 329-340.
- Rousseaux-Prevost, R., Capron, M., Bazin, H. & Capron, A. IgE in experimental schistosomiasis. II. Quantitative determination of specific IgE antibodies against S. mansoni : A follow up study of two strains of infected rats. Correlation with protective immunity. Immunology, 1978, 35, 33.
- Rowe, D.S. Radio-active single radial diffusion : a method for increasing the sensitivity of immunochemical quantitation of protein in agar-gel. Bull. WHO, 1969, 40, 613.
- Sadun, E.H., Schoenbeckler, M.J. & Bentz, M. Multiple antibody response in Schistosoma mansoni infections : antigenic constituents in eggs, cercariae, and adults (excretions and secretions) determined by flocculation reactions cross-absorption, and double diffusion studies. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1965, 14, 977.
- Saksela, E., Emir, T. & Mäkel, O. Specifically cytotoxic human anti-mouse lymphoid cells induced with antibody or antigen-antibody complexes. J. Immunol., 1975, 145, 1488-1499.
- Santoro, F., Lachman, P.J. & Capron, M. Activation of complement by S. mansoni schistosomula : killing of parasites by the alternative pathway and requirement of IgG for classical pathway activation. J. Immunol., 1979, 123, 1551.
- Sadun, E.H., Mota, I. & Gore, R.W. Demonstration of homocytotropic reagin-like antibodies in mice and rabbits infected with Trichinella spiralis. J. Parasit., 1968, 54, 814.
- Santoro, F., Bout, D., Camus, D. & Capron, A. Immune complexes in schistosomiasis. IV-C3, C4, and C1q characterization and correlation between C3 in serum and circulating IC levels. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, 1977a, 19, 39-42.
- Santoro, F., Carlier, Y., Borojevic, R., Bout, D., Tachon, P. & Capron, A. Parasite "M" antigen in milk from mothers infected with Schistosoma mansoni. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1977d, 71, 121-123.

- Sawada, T., Sato, K. & Sato, S. Studies on skin test antigen FST for immunodiagnosis of filariasis. I. Electrophoretic analysis and fractionation of antigen SFT. Jap. J. Exp. Med., 1969, 39, 427-433.
- Schulz-Key, H., Albiez, E.J. & Büttner, D.W. Isolation of living adult onchocerca volvulus from nodules. Tropenmed. Parasit., 1977, 28, 428-430.
- Silva, L.C. da, Brito, T. de, Camargo, M.E., Boni, P.R. de, LOPES, J.D. & GUNJI, J. Kidney biopsy in the hepatosplenic form of infection with S. mansoni in man. Bull. Wld Hlt Org., 1970, 42, 907-910.
- Smith, M.D., Verroust, P.J., Morel-Maroger, L., Pasticier, A. & Couland, J.P. Circulating immune complexes in schistosomiasis. Brit. Med. J., 1975a, ii, 274.
- Sobel, A.T., Bokisch, V.A. & Müller-Eberhard, H.J. Clq deviation test for the detection of immune complexes, aggregates of IgG and bacterial products in human sera. J. Exp. Med., 1975, 142, 139-150.
- Somorin, A.O., Heiner, D.C. & Ajuguvo, R.E. Immunoglobulin E in Nigerian onchocerciasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1974, 26, 872.
- Shin, H.S., Snyderman, R., Friedman, E., Mellors, A. & Mayer, M.M. Chemotactic and anaphylactic fragment cleaved from the fifth component of guinea pig complement. Science, 1968, 162, 361-363.
- Spiegelberg, H.L. Biological activities of immunoglobulin of different classes and subclasses. Adv. Immunol., 1974, 19, 259-294.
- Spitznagel, J.K. & Allison, A.C. Mode of action of adjuvants : effects on antibody responses to macrophage associated bovine serumalbumine. J. Immunol., 1970, 104, 128.
- Spry, C.J.F. & Tai, P.C. Studies on blood eosinophils. II. Patients with Löffler's cardiomyopathy. Clin. Exp. Immunol., 1976, 24, 423.
- Stanworth, D.R. Immediate hypersensitivity. The molecular basis of the allergic response. In "Frontiers of Biology", vol. 28, Neuberger, A. & Tatum, E.L., Eds, North Holland, Publ. Co, Amsterdam.
- Stanworth, D.R., Humphrey, J.H., Bennich, H. & Johanson, S.G.O. Specific inhibition of the Prausnitz-Küstner reaction by an atypical human myeloma protein. Lancet, 1967, ii, 330.
- Stanworth, D.R., Humphrey, J.H., Bennich, H. & Johansson, S.G.O. Inhibition of Prausnitz-Küstner reaction by proteolytic cleavage fragments of human myeloma protein of immunoglobulin classe E. Lancet, 1968, ii, 17.
- Stirewalt, M.A. Schistosoma mansoni : histological localization of gelatinase in preacetabular glands of cercariae. Exp. Parasit., 1973, 34, 382.
- Tada, T. & Ishizaka, K. Distribution of E-forming cells in lymphoid tissues of the human and monkey. J. Immunol., 1970, 104, 377.
- Tada, T., Okumura, K. & Taniguchi, M. Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. VIII. An antigen-specific T cell factor regulate anti-hapten homocytotropic response. J. Immunol., 1973, 111, 952.

- Tai, P.C. & Spry, C.J.F. Studies on blood eosinophils. I. Patients with a transient eosinophilia. Clin. Exp. Immunol., 1976, 24, 415-422.
- Taniguchi, M. & Tada, T. Dual regulatory role of the thymus in the maturation of immune response in the rabbit. J. Exp. Med., 1974, 139, 108.
- Taniguchi, M. & Tada, T. Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. X, IgT-like molecule for the induction of homocytotropic antibody response. J. Immunol., 1974, 113, 1757.
-
- Taussig, M.J. & Lachmann, P.H. Studies on antigenic competition. II. Abolition of antigenic competition by antibody against or tolerance to the dominant antigen : a model for antigenic competition. Immunol., 1972, 22, 185.
- Ten Eyck, D.R. Comparison of biopsy and fluorescen-antibody staining techniques for the detection and study of onchocerciasis in an Ethiopian population. Amer. J. Epidemiol., 1973, 98, 283-288.
- Terry, R.J., Freeman, J., Hudson, K.M. & Longstaffe, J.A. IgM production and immunosuppression in trypanosomiasis. A linking hypothesis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1973, 67, 263.
- Theofilopoulos, A.N., Dixon, F.J. & Bokisch, V.A. Binding of soluble immune complexes to human lymphoblastoid cells. I. Characterization of receptors for IgG Fc and complement and description of the binding mechanism. J. Exp. Med., 1974, 140, 877-894.
- Torishima, M., Yoshida, T., Ward, P.A. & Cohen, S. Lymphocyte-derived eosinophil chemotactic factor. II. Studies on the mechanism of activation of the precursor substance by immune complexes. J. Immunol., 1973, 111, 1450-1458.
-
- Uhr, J.W. & Möller, G. Regulatory effect of antibody on the immune response. Adv. Immunol., 1968, 8, 81-127.
-
- Vaitukaitis, J., Robbins, J.B., Nieschlag, E. & Rob, T.G. A method for producing specific antisera with small doses of immunogen. J. Clin. Endocrin. Metabol., 1971, 33, 988-991.
-
- Valanakis, J.E. & STROUD, R.M. Rabbit Clq : purification, functional and structural studies. J. Immunol. Meth., 1972, 2, 25-34.
- Ward, P.A. Complement factors involved in chemotaxis of human eosinophils and a new chemotactic factor for neutrophils from C'5. J. Immunol., 1968, 101, 818-819.
- Warren, K.S., Boros, D.L., Hang, L.M. & Mahmoud, A.A. The Schistosoma japonicum egg granuloma. Ann. J. Path., 1975, 80, 279.
- Watson, K.C. Immunoconglutinin levels in normal and diseased population groups in Southern African. Clin. Exp. Immunol., 1971, 8, 871-880.
-
- Weeke, B. & Lowenstein, H. Allergens identified in crossed radioimmuno-electrophoresis. Scand. J. Immunol., 1973, 2 (suppl. 1), 149-153.
- Weiss, N., Speiser, F. & Hussain, R. IgE antibodies in human onchocerciasis. Application of a newly developed radioallergosorbent test RAST. Acta Tropica, 1981, 38, 353.
- Weitz, B. The properties of some antigens of Trypanosoma brucei. J. Gen. Microbiol., 1960, 23, 589-600.
- Wide, L. Radio-immunoassays employing immunosorbents. Immunoassay of ganadotrophins. Acta Endocr., 1969, 63, 207.

- Wide, L., Axen, R. & Porath, J. Radioimmunosorbent assay of proteins. Chemical couplings of antibodies to soluble dextran. Immunochemistry, 1967, 4, 381.
- Wide, L., Bennich, H. & Johansson, S.G.O. Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. Lancet, 1967, 2, 1105.
- Wilkins, H.A. & Brown, J. Plasma IgE levels and Schistosoma haematobium infection. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1973, 67, 726.
- Wilson, R.J. Homocytotropic antibody response to the nematode Nippostrongylus brasiliensis in the rat. Studies on the worm antigen. J. Parasit., 1967, 53, 752.
- Wilson, R.J.M. The production of antigens by Plasmodium falciparum in vitro. Int. J. Parasitol., 1976, 4, 537-547.
- Wilson, R.J.M. Soluble antigens as blocking antigens. in "Parasites in the immunized host : mechanisms of survival" (p. 185-204). Associated Scientific Publ. Amsterdam, 1974.
- Wilson, R.J.M. & Bartholomew. The release of antigens by Plasmodium falciparum. Parasitology, 1975, 71, 183-182.
- Wilson, R.J.M., Mc Gregor, I.A. & William, K. Occurrence of S antigens in serum in Plasmodium falciparum infections in man. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1975, 69, 453-459.
- Wilson, R.J.M., Mc Gregor, I.A. & Hall, J. Persistence and recurrence of S-antigens in Plasmodium falciparum infection in man. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1975, 69, 460-467.
- Wong, M.M. & Luter, P.T. Indirect fluorescent antibody test in occult Dirofilariasis. Am. J. Vet. Res., 1979, 40-44.
- Wong, V.G., Anderson, R. & O'Brien, P.J. Sympathetic and lymphocyte transformation. Am. J. Ophthal., 1971, 72, 960.
- Yagi, Y., Maier, P. & Pressman, C. Immuno-electrophoretic identification of guinea pig anti-insulin antibodies. J. Immunol., 1962, 89, 736-744
- Ziegler, J.L. Clin. Immunol., 1973, 15, 65.
- Zubler, R.H. & Lambert, P.H. The ^{125}I -C1q binding test for the detection of soluble immune complexes. in "in vitro methods in cell-mediated and tumor immunity". Ed. Par B.R. Bloom & J.R. David, New York; Academic Press, 1976, pp. 565-572.
- Zubler, R.H., Lange, G., Lambert, P.H. & Miescher, P.A. Detection of immune complexes in heated sera by a modified ^{125}I -C1q binding test. Effect of heating on the binding of C1q by immune complexes and application of the test to systemic lupus erythematosus. J. Immunol., 1976a, 116, 232-235.
- Zubler, R.H., Nydegger, H., Perrin, L.H., Fehr, K., Mc Cornick, J., Lambert, P.H. & Miescher, P.A. Circulating and intra-articular immune complexes in patients with rheumatoid arthritis. Correlation of ^{125}I -C1q binding activity with clinical and biological features of the disease. J. Clin. Invest., 1976, 57, 1308-1319.
- Zubler, R.H., Perrin, L.H., Creighton, W.D. & Lambert, P.H. The use of a polyethylene glycol (PEG) to concentrate immune complexes from serum or plasma samples. Ann. Rheum. Dis., 1976, 35 (suppl).

TABLE DES MATIÈRES

	<u>Page</u>
INTRODUCTION.....	3
CHAPITRE I - DONNÉES GÉNÉRALES SUR LES FILARIOSES HUMAINES	
A - Les filarioses humaines.....	7
1 - Onchocercose.....	7
a) Biologie.....	7
b) Manifestations cliniques.....	10
Manifestations dermatologiques.....	10
Lésions ophtalmologiques.....	12
Système lymphatique.....	14
Formes cliniques.....	14
c) Réponse immune dans l'onchocercose.....	15
2 - Les filarioses lymphatiques.....	19
3 - Loase.....	20
B - Diagnostic des filarioses.....	22
1 - Examens parasitologiques.....	22
a) Méthodes directes de mise en évidence du parasite.....	22
a.1) Recherche des nodules.....	22
a.2) Recherche des microfilaires.....	23
b) Méthodes indirectes de la mise en évidence du parasite.....	24

(Table des matières - suite)

Page

2 - Diagnostic immunologique.....	25
a) Test d'intradermoréaction.....	27
b) Test de réaction de fixation du complément.....	28
c) Réaction d'hémagglutination.....	29
d) L'immunofluorescence.....	29
e) Double diffusion et immunoélectrophorèse.	30
e.1) Double diffusion d'Ouchterlony.....	30
e.2) Immunoélectrophorèse.....	31
f) ELISA (Enzyme linked-immunosorbent assay)	31

CHAPITRE II - LES ANTIGÈNES (AG) ET LES
COMPLEXES IMMUNS CIRCULANTS
(CIC)

A - Les antigènes circulants.....	33
1 - Antigènes circulants dans les infections à protozoaires.....	33
a) Paludisme.....	33
b) Babesiose.....	33
c) Leishmaniose et Trypanosomiase.....	34
2 - Antigènes circulants dans les helminthiases.....	34
a) Schistosomiases.....	34
b) Infections à nématodes.....	35

(Table des matières - suite)

	<u>Page</u>
3 - Nature des antigènes circulants.....	35
a) Enzymes.....	35
b) Substances métaboliques.....	36
c) Auto-anticorps.....	36
d) Résidus tégumentaires.....	36
4 - Rôle des antigènes circulants dans la réponse immune de l'hôte.....	37
a) Induction de la synthèse des anticorps...	37
b) Les autoanticorps.....	39
c) L'immunosuppression.....	40
B - Les complexes immuns circulants (CIC).....	43
1 - Origine des complexes immuns.....	44
a) Formation des complexes.....	44
b) Devenir des complexes immuns circulants..	46
2 - Propriétés biologiques des immuns complexes.....	47
a) Activation du système du complément.....	47
a.1) Conséquences biologiques de l'activité du complément.....	48
- Le chimiotactisme.....	48
- L'exocytose.....	48
- L'activité cytolytique.....	48
- L'activité anaphylatoxique.....	49
- L'immunoadhérence.....	49
a.2) Conséquences pathologiques de l'activation du complément.....	50

(Table des matières- suite)

	<u>Page</u>
b) Activation des cellules par les immuns complexes.....	50
b.1) Les neutrophiles.....	52
b.2) Les plaquettes.....	52
b.3) Les éosinophiles.....	52
b.4) Les mastocytes et les basophiles.....	53
b.5) Les monocytes.....	53
b.6) Les lymphocytes.....	54
c) Effets des complexes au niveau de la réponse humorale.....	56
d) Effets des immuns complexes sur la réponse immune à médiation cellulaire dépendante ou non d'anticorps.....	57
3 - Maladies liées à la formation des immuns complexes.....	59
a) Les infections parasitaires.....	59
a.1) Le paludisme.....	60
a.2) Les trypanosomiasés.....	60
a.3) La schistosomiase.....	61
a.4) L'onchocercose.....	61
b) Maladies autoimmunes.....	63
. Polyarthrite rhumatoïde.....	63
. Le lupus érythémateux.....	63

(Table des Matières - Suite)	<u>Page</u>
4 - Mise en évidence des immuns complexes circulants.....	64
a) Méthodes non spécifiques de l'antigène..	65
a.1) Méthodes fondées sur les propriétés physiques des immuns complexes.....	65
a.1.1) L'ultracentrifugation analytique	65
a.1.2) La précipitation en polyéthylène- glycol (PEG).....	65
a.2) Interaction avec le complément.....	67
Test de liaison du Clq.....	67
C - Conclusion.....	68
 CHAPITRE III - IgE : DONNÉES GÉNÉRALES	 70
 INTRODUCTION.....	 71
A - Structure et synthèse de l'IgE.....	72
1 - Structure de l'IgE.....	72
2 - Biosynthèse de l'IgE et facteurs immunologiques de la réponse IgE.....	73
a) L'espèce animale.....	74
b) Facteurs génétiques.....	74
c) Nature et dose de l'antigène.....	76
B - Propriétés biologiques de l'IgE.....	76
1 - Interaction de l'IgE et des mastocytes....	76
2 - Interaction de l'IgE et du macrophage.....	80
3 - Interaction de l'IgE et de l'éosinophile..	81

(Table des matières - suite)

	<u>Page</u>
C - Régulation de la réponse IgE.....	81
Rôle des lymphocyte B et T.....	81
D - Production des IgE dans les helminthiases.....	84
1) Les helminthiases.....	84
E - Méthodes actuelles de dosage des IgE.....	85
1 - Méthodes immunochimiques.....	86
a) Dosages des IgE totales circulantes.....	86
- Immunodiffusion en milieu gélifié.....	86
- Méthodes radioimmunologiques.....	87
b) Méthodes de dosage des IgE spécifiques d'un antigène.....	89
- Radioallergosorbent test (RAST).....	89
- Méthodes utilisant l'isolement puis le dosage des IgE spécifiques d'un antigène.....	90
2 - Méthodes biologiques.....	90
a) Anaphylaxie cutanée passive (PCA : passive cutaneous anaphylaxis).....	90
b) Sensibilisation des cellules <u>in vitro</u>	92

(Table des matières - suite)	Page
TRAVAUX PERSONNELS	93
<hr/>	
CHAPITRE IV - MATÉRIELS ET MÉTHODES	94
A - Matériel.....	95
1 - Les antigènes.....	95
2 - Les sérums.....	96
a) Les sérums de malades.....	96
b) Les immunosérums.....	97
3 - Les urines.....	97
4 - Les immunoglobulines.....	98
B - Techniques.....	98
1 - Immunoprécipitation en gel.....	98
a) Double diffusion en gel (DDG).....	98
b) Immunoélectrophorèse.....	100
2 - Radioimmunoélectrophorèse.....	102
3 - RIPEGA (Radioimmunoprecipitation- PEG Assay).....	103
4 - SRIA (Sandwich Radioimmunoassay).....	105
5 - Test de liaison au Clq- ¹²⁵ I.....	107
6 - RIST (Radioimmunosorbent Test).....	109
7 - RAST (Radioallergosorbent Test).....	109

CHAPITRE V - RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	112
A - Détection des antigènes circulants.....	113
1 - Par des réactions de précipitation en gel.	113
2 - Détection des antigènes circulants par le RIPEGA.....	115
3 - Détection des antigènes circulants par le SRIA.....	121
4 - Caractérisation de l'antigène circulant <u>O. volvulus</u>	124
5 - Détection des antigènes circulants dans les urines de patients onchocerquiens.....	127
6 - Discussion.....	129
B - Etude des immuns complexes circulants.....	137
1 - Détection des immuns complexes.....	137
2 - Caractérisation des immuns complexes.....	140
3 - Discussion.....	142
C - Dosage des IgE spécifiques dans l'onchocercose	147
1 - Dosage des IgE totales.....	147
2 - Dosage des anticorps IgE spécifiques dans les sérums de patients onchocerquiens.....	149
3 - Mise en évidence des réactions croisées entre les allergènes de <u>O. volvulus</u> et <u>D. viteae</u>	158
4 - Discussion.....	161
CONCLUSION.....	168

(Table des matières - suite)	Page
PROTOCOLE DES TECHNIQUES UTILISEES.....	170
Immunsation des lapins.....	170
1. La méthode de Vaitukaitis.....	170
2. La méthode par voie sous-scapulaire.....	171
Double diffusion.....	172
Immunoélectrophorèse.....	173
Radioimmunoélectrophorèse.....	175
Précipitation des immunoglobulines (Ig).....	176
Marquage des Ig.....	177
Radioimmunoprecipitation-PEG-assay (RIPEGA).....	178
Sandwich radioimmunoassay (SRIA).....	178
Test de Liaison au Clq. (125 I).....	181
Radioimmunosorbent test (RIST).....	182
Radioallergosorbent test (RAST).....	183
Préparation de l'immunoabsorbant.....	184



RESUME

Les études que nous avons conduites nous ont permis de montrer que les antigènes circulants d'Onchocerca volvulus peuvent être détectés chez un grand nombre de patients. La technique d'immunodiffusion indique que 31 % de malades présentent des antigènes circulants. Les tests radioimmunologiques qui sont plus sensibles en détectent chez plus de 75 % de sujets. L'analyse immunoélectrophorétique des divers sérums indique la présence d'un système précipitant majeur localisé dans la région cathodique et qui est spécifique de l'onchocercose.

Des études préliminaires indiquent aussi que cet antigène majeur peut circuler non seulement sous forme libre, mais aussi complexée aux anticorps IgG et IgM. D'autres anticorps spécifiques tels que les IgE ont été détectées chez la majorité des onchocerquiens grâce aux tests radioimmunologiques (RIST et RAST). Les tests d'inhibition et la radioimmunoélectrophorèse ont permis d'observer que ces anticorps reconnaissent les allergènes présents dans l'extrait total soluble de Dipetalonema viteae et de O. volvulus. Cette dernière observation est d'un intérêt capital pour la mise au point d'un test immunodiagnostic de masse, vu la rareté et les difficultés rencontrées pour l'obtention d'antigène d'O. volvulus en quantités suffisantes. Le cycle de D. viteae, filaire de hamster, est maintenu au laboratoire.

Mots clés: - Onchocerca volvulus
- Antigènes circulants
- Immuns complexes
- Anticorps IgE spécifiques
- Test d'Immunodiffusion
- Tests Radioimmunologiques