

Facteurs génétiques et immunologiques déterminant la résistance à la bilharziose en région d'endémie

Alain Dessein
 Pascal Rihet
 Christian Demeure
 Patricia Couissinier
 Olivia Bacellar
 Edgar M. Carvalho
 Sybille Kohlstaedt
 Helia Dessein
 Antonio Souza
 Aluizio Prata
 Veronica Goudot
 Alain Bourgois
 Laurent Abel

Dans les régions de bilharziose endémique, les formes cliniques graves se rencontrent principalement chez les individus les plus infectés. Les niveaux d'infection sont en grande partie fonction (inverse) des capacités de résistance des sujets qui ont des contacts avec les eaux infectées par *Schistosoma mansoni* ; ces capacités semblent dépendre des effets d'un gène co-dominant majeur. Les facteurs écologiques et comportementaux ont, quant à eux, une influence mesurable, mais moindre, sur les niveaux d'infection. L'acquisition de la résistance est un processus lent qui se prolonge jusqu'à l'adolescence, qui est altéré dans les zones à haute transmission chez les sujets (adolescents) les plus exposés, et qui est associée au développement d'une immunité relayée par les IgE et dont les effets protecteurs sont contrebalancés par l'action négative des IgG4. L'augmentation des IgG4 spécifiques chez les adolescents très exposés, expliquerait la plus grande susceptibilité de ceux-ci à l'infection. Ces observations épidémiologiques et immunologiques plaident fortement pour un contrôle de cette endémie par la vaccination. Certaines enzymes parasitaires semblent être des cibles vaccinales prometteuses.

ADRESSES

A. Dessein : directeur de recherche. P. Rihet : attaché de recherche. C. Demeure : docteur ès sciences. P. Couissinier : étudiante 3^e cycle. S. Kohlstaedt : étudiante 3^e cycle. H. Dessein : biologiste. V. Goudot : maître de conférence. A. Bourgois : directeur de recherche. Centre d'immunologie Inserm-Cnrs de Marseille Luminy, case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France.
 L. Abel : chargé de recherche. Inserm U.194, hôpital Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France.
 A. Souza : biologiste. A. Prata : professeur de médecine tropicale. Faculdade de medicina do Triangulo Mineiro, Uberaba, Brésil et centro de saude de Caatinga do Moura, Jacobina, Brésil.
 E.M. Carvalho : professeur associé de médecine. O. Bacellar : biologiste. Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brésil.

Malgré les progrès importants qui ont été effectués dans la prévention et le traitement des formes cliniques graves de bilharziose, aucune méthode ne permet actuellement de contrôler durablement ces endémies et certaines d'entre elles, telle la bilharziose à *S. mansoni* (figure 1, p. 110), sont en extension [1]. Le contrôle des bilharzioses, comme celui de la plupart des endémies parasitaires, doit se fonder sur une bonne connaissance des facteurs qui déterminent les hauts niveaux d'infection et le développement des formes cliniques graves ; morbidité et hauts niveaux d'infection

étant d'ailleurs étroitement liés. Parmi les facteurs capables d'influencer infection et maladie en zone de bilharziose endémique, doivent être distingués les facteurs de milieu — soit liés à l'environnement, par exemple la densité de mollusques infectés ou la température de l'eau, soit d'origine comportementale, par exemple la fréquence des bains dans une rivière infectée — et les facteurs de susceptibilité/résistance qui traduisent les capacités de résistance intrinsèques à chaque individu et qui peuvent dépendre, par exemple, d'une immunité innée ou acquise.

Ces facteurs peuvent paraître nombreux et variés et leurs effets diffi-

les à évaluer ; en fait, seuls ceux des facteurs qui ont un effet limitant sur le phénotype sur lequel on veut agir, sont à prendre en compte dans les programmes de contrôle. L'importance de certains facteurs, tels le niveau d'exposition au parasite, l'âge ou les capacités de résistance, avait été notée dans le passé, mais leurs rôle et poids respectifs n'avaient pas été évalués en l'absence de méthodes quantitatives de mesure et à cause de difficultés dues à l'interdépendance de certains de ces facteurs. Cette évaluation est maintenant possible en utilisant les méthodes d'analyse statistique multivariée et, pour les études génétiques, d'analyse de ségrégation, à la condition que les paramètres de l'infection soient quantifiés avec un maximum d'objectivité. En collaboration avec nos collègues brésiliens, nous avons effectué une telle étude dont les principales observations sont résumées ci-dessous.

Importance des facteurs de milieu dans l'infection humaine par *S. mansoni*

Cette étude a été effectuée dans un village du Nord-Est brésilien où la bilharziose est la seule endémie parasitaire ayant des conséquences médicales majeures. Le village est traversé par une rivière qui est peuplée de nombreux mollusques dont certains sont infectés par *Schistosoma mansoni* ; comme la rivière est la principale source d'eau pour les usages domestiques et pour l'irrigation, laquelle est obligatoire sous ce climat sec et aride, pratiquement toute la population est infectée et certains individus ont un niveau d'infection très élevé. Le groupe du Dr Prata avait, durant plusieurs années, tenté de contrôler la transmission du parasite dans ce village. La destruction du mollusque vecteur par épandage de mollusquicides avait eu peu d'effets durables sur la transmission, car la population de mollusques se reconstituait quelques mois après l'application de mollusquicides ; le déparasitage, par chimiothérapie des sujets infectés, combiné à l'application de mollusquicides avait réduit considérablement les niveaux d'infection, mais les habitants du village s'étaient réinfectés dans les mois suivant le traitement et,

trois ans après le traitement, les niveaux d'infection étaient comparables à ceux observés avant traitement.

Nous avons tout d'abord évalué soigneusement le niveau d'exposition de chacun des individus étudiés. Ce travail a été facilité par le fait que tous fréquentaient les mêmes points d'eau ; ces endroits ont fait l'objet d'une surveillance étroite et constante pendant toute la durée de l'étude, et les individus ayant des contacts avec les points d'eau, la nature de leurs contacts (bains, irrigation, lavage de vaisselle, lessive, etc.) et la durée de ceux-ci ont été notés. Ces données ont fourni une évaluation de l'importance des contacts avec la rivière de chacun des individus participant à l'étude. Cette évaluation fut grandement facilitée par la coopération de la population à laquelle les raisons de ce travail avaient été expliquées. Ces observations permirent d'évaluer l'influence du niveau d'exposition sur la charge parasitaire, laquelle était mesurée par comptage des œufs du parasite dans les selles. Les résultats [2, 3] confirmèrent que les niveaux d'infection sont effectivement fonction des niveaux d'exposition ; toutefois, une grande partie des variations inter-individuelles des niveaux d'infection ne purent être imputées à des différences d'exposition. Les niveaux d'infection étaient également très variables suivant l'âge des sujets ; en particulier, les individus les plus infectés étaient, en général, des enfants de 8 à 12 ans. Ce phénomène avait été noté dans plusieurs études et avait été généralement attribué à un haut niveau d'exposition de ces enfants. Une analyse multivariée des résultats [3], prenant en compte les différences d'exposition entre les classes d'âge, montra que cette conclusion n'était pas exacte et qu'une partie seulement des variations du niveau d'infection avec l'âge était due à des différences d'exposition. Ce résultat est illustré par la figure 2, p. 111 qui montre, pour chaque classe d'âge et pour chaque sexe, les différences d'exposition (2B), les niveaux d'infection avant (2A) et après (2C) prise en compte des différences d'exposition entre classes d'âge. Ce résultat, également obtenu dans deux autres études réalisées sur des populations du Kenya [4] et de

Gambie [5], explique une propriété commune aux bilharzioses et très probablement à plusieurs autres helminthiases telles les anguilluloses pour lesquelles les courbes infection/âge ressemblent à celles des bilharzioses [6, 7]. Un tel résultat indique que le développement complet de la résistance aux schistosomes (et sans doute à d'autres helminthiases) suit un lent processus de maturation/différenciation. Comme ce phénomène a été observé également chez des adultes récemment installés en zone d'endémie [8], il est possible que le développement lent de la résistance ne dépende pas de l'âge mais requiert plutôt une exposition prolongée au parasite et de multiples réinfections. Il est probable aussi qu'au moins deux phénomènes concourent à l'acquisition progressive de la résistance : (a) une lente maturation de certains mécanismes immunologiques et (b) l'altération de ce processus dans certaines conditions d'exposition très élevée telles celles observées chez les jeunes de 8 à 12 ans. Cette altération est suggérée par les données de réinfection après traitement qui indiquent une susceptibilité anormalement élevée chez les sujets appartenant aux classes très exposées (C.D. Demeure *et al.*, soumis pour publication) et est corroborée par la mise en évidence de facteurs immunologiques capables d'interférer avec les mécanismes de résistance [9, 10].

Les niveaux de résistance sont en grande partie déterminés génétiquement

Bien que les effets des niveaux d'exposition et de l'âge (ou du temps d'exposition) aient été nets, ils n'expliquaient que 20 à 25 % de la variance des niveaux d'infection et, de toute évidence, d'autres facteurs étaient impliqués.

Nous avons noté que les sujets très infectés étaient groupés dans certaines familles et non pas distribués de manière aléatoire dans la population ; de même, certaines familles nucléaires (parent-enfant) ne comprenaient que des sujets très résistants. Cette observation suggérait l'existence d'une composante génétique à la résistance. Cette opinion était d'ailleurs confortée par les études chez

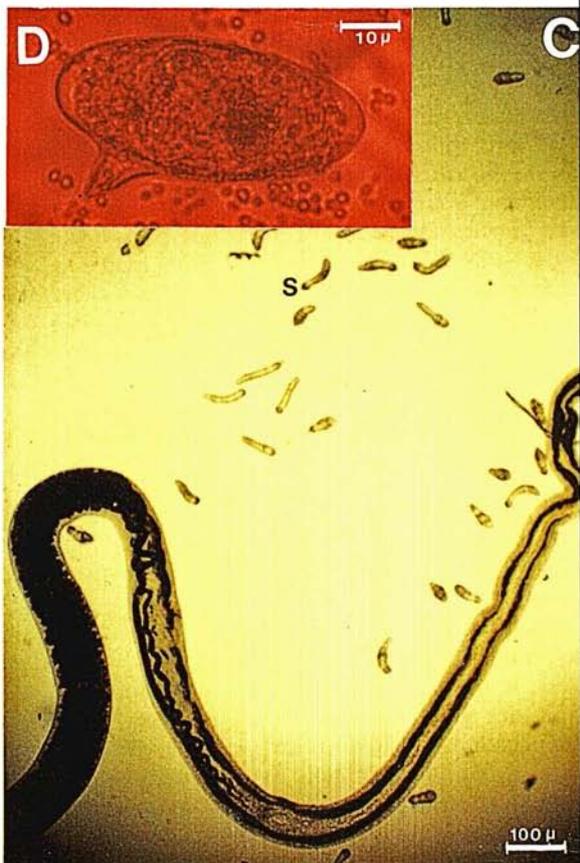
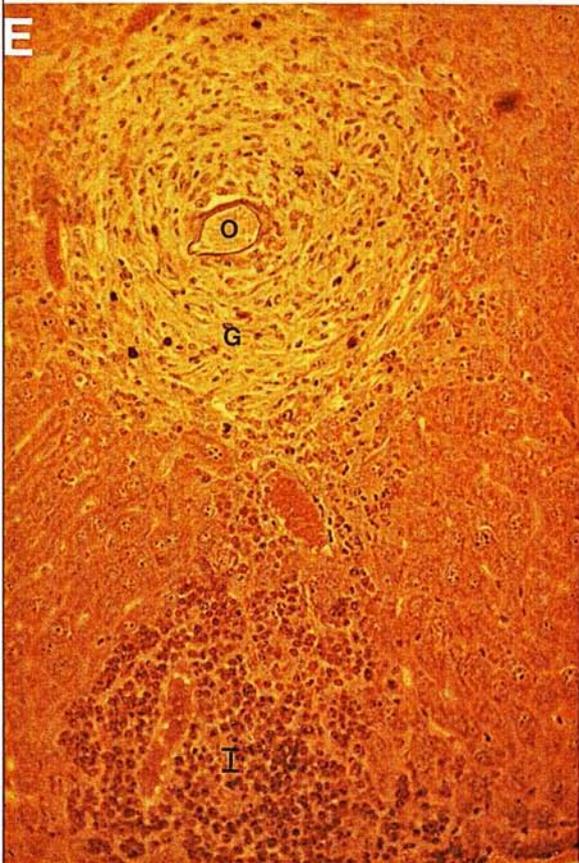
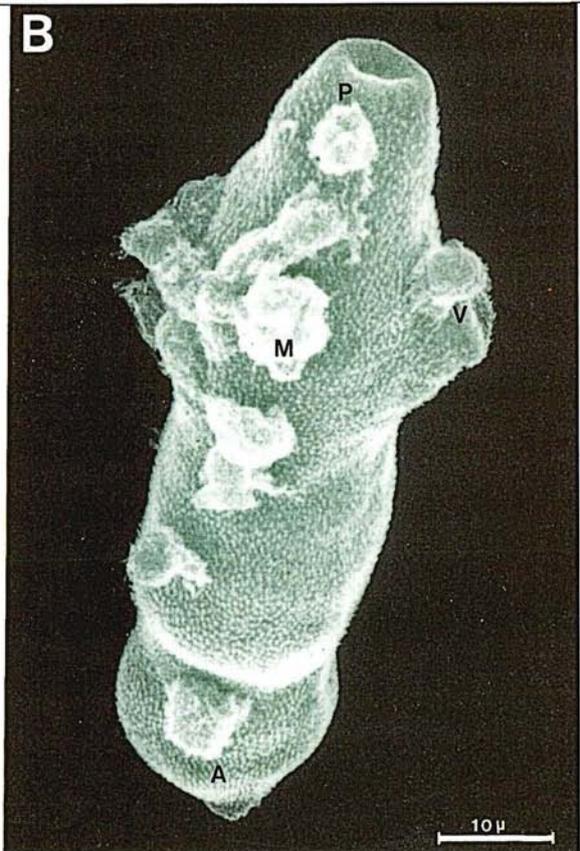


Figure 1. **Le schistosome est l'agent de la bilharziose ou schistosomiase, une infection parasitaire qui affecte la santé de plusieurs centaines de millions d'individus dans le monde, en particulier dans les pays de la zone tropicale.** Les schistosomes sont des organismes eucaryotes appartenant à la classe des vers plats (Trématodes) à sexe séparé. Le genre *Schistosoma* comprend plusieurs espèces dont les plus importantes en médecine humaine sont *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* et *S. intercalatum*; ces espèces causent chez l'homme des affections différentes, *S. mansoni* et *S. japonicum* étant les plus pathogènes. Les schistosomes développent leur cycle entre deux hôtes, l'un est un mollusque aquatique d'eau douce, l'autre est généralement l'être humain. La forme larvaire nageuse (A) émise par le mollusque pénètre la peau de l'être humain par digestion des tissus où elle se transforme en quelques heures en un organisme morphologiquement et antigéniquement différent, la schistosomule (B, avec l'autorisation de J. Caufield, Harvard University. Les monocytes (M) adhérant à la surface de la schistosomule rappellent que celle-ci est multicellulaire). Cette larve migre ensuite dans le système vasculaire et se développe en 4 à 5 semaines en un vers adulte qui s'établit dans les rameaux de la veine porte où il vit plusieurs années. La figure C représente un vers femelle entouré d'une vingtaine de schistosomules (S). Dès la cinquième semaine, les adultes copulent et se reproduisent. La femelle pond des œufs (1D) qui digèrent la paroi intestinale, passent dans l'intestin et sont éliminés dans les fèces, contribuant ainsi à la propagation du parasite, car les œufs, au contact de l'eau, éclosent et libèrent une larve qui, à son tour, infecte le mollusque vecteur. Une partie de la ponte est toutefois entraînée par le courant sanguin vers les sinusoides hépatiques où les œufs restent bloqués et initient une réaction inflammatoire à médiation cellulaire (bas de la figure E); comme l'œuf (O) ne peut être détruit et résorbé rapidement, l'infiltrat inflammatoire (I) s'organise en un granulome (G) dont un des rôles est d'empêcher la diffusion des substances antigéniques toxiques de l'œuf, mais qui a également pour résultat la destruction locale du tissu hépatique. Cette étape destructive est suivie par une phase de réparation ou cicatrisation durant laquelle les tissus endommagés sont remplacés par des tissus fibreux (haut de la figure E). Les infections élevées sont donc associées à une hépatite chronique (inflammation causée par les œufs et les produits de sécrétion des vers), associée et suivie par un dépôt massif de collagène autour des rameaux de la veine porte. D'un point de vue macroscopique, les rameaux portes dont les parois sont épaissies par les tissus fibreux, prennent l'aspect de tuyaux de pipe qui est caractéristique de cette fibrose que Symmers fut un des premiers à décrire (fibrose dite de « Symmers » en « tuyau de pipe »). D'un point de vue clinique, l'hépatite évolue en cirrhose dont les conséquences et complications sont, hélas, trop connues : hypertension portale, développement de varices œsophagiennes, saignements, accélération de la nécrose du tissu hépatique, ascite et mort par hémorragie et cachexie. Cinq à 10 % des individus vivant en zone d'endémie développent une forme clinique grave ; V : ventouse ; A : pôle antérieur ; P : pôle postérieur ; M : monocyte.

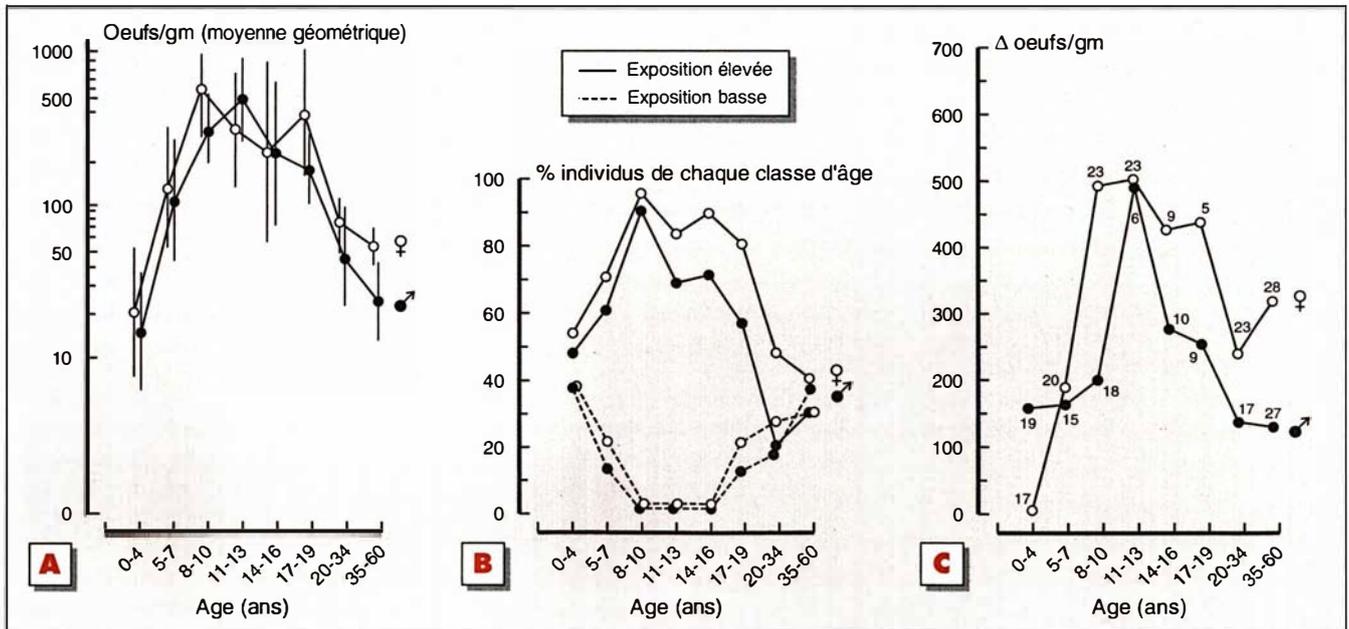


Figure 2. **Niveaux d'infection pour chaque classe d'âge avant (A) et après (C) prise en compte des différences d'exposition entre les classes d'âge (B).** (A) Niveau d'infection brute dans chaque classe d'âge. Les niveaux d'infection sont exprimés comme la moyenne géométrique du nombre d'œufs excrétés. (B) Variations de l'exposition en fonction de l'âge. Le pourcentage d'individus ayant une exposition élevée ($W=3+4$) ou basse ($W=1$) est indiqué pour chaque classe d'âge. (C) Influence de l'âge sur les niveaux d'infection après prise en compte de l'effet de l'exposition et du sexe. Les résultats sont représentés comme la différence, en nombre d'œufs excrétés, entre chacune des classes d'âge et la classe d'âge (0-4 ans) qui présente le niveau d'infection moyen le plus bas. Les chiffres figurant au-dessus des courbes représentent le nombre d'individus par point.

ANALYSE DE SÉGRÉGATION ET ANALYSE DE LINKAGE

L'analyse de ségrégation est la première étape nécessaire pour déterminer, à partir de données familiales, le mode de transmission d'un phénotype, avec comme but principal l'identification d'un gène unique, appelé gène majeur. Le principe général de cette méthode est de déterminer, par des tests statistiques, le mode de transmission expliquant le mieux les distributions familiales observées du phénotype étudié. Des modèles mathématiques ont récemment été développés [12, 13] et incluent l'influence de facteurs environnementaux et génétiques dans les différentes hypothèses concernant le mode de transmission du phénotype. Dans ces modèles, l'expression du phénotype est supposée être sous la dépendance de trois composantes. (a) Des facteurs de milieu. Lorsque le phénotype étudié est quantitatif, comme pour notre étude sur l'infection à *S. mansoni* où le phénotype était le nombre d'œufs du parasite dans les selles, la prise en compte des facteurs de milieu se fait par un ajustement des données sur ces facteurs par des méthodes statistiques classiques. On obtient alors une distribution du phénotype indépendante des facteurs de milieu avec une moyenne m et une variance s^2 . (b) Un gène majeur mendélien diallélique (A et a , par exemple). La prise en compte de ce gène majeur se fait en considérant que l'échantillon est constitué de trois groupes d'individus, correspondant aux trois génotypes possibles (AA , Aa et aa). Dans ce cas, la distribution du phénotype n'est plus homogène (avec une seule moyenne m), mais composée d'une combinaison de trois distributions avec trois moyennes m_{AA} , m_{Aa} et m_{aa} correspondant aux trois génotypes : les proportions de ces trois distributions correspondent aux fréquences respectives des trois génotypes, elles-mêmes données par la fréquence d'un des allèles (A par exemple) et par la loi de Hardy-Weinberg (Tableau I). De plus, la répartition dans l'échantillon de ces trois groupes d'individus n'est pas aléatoire, mais doit respecter dans les familles les lois de la transmission mendélienne (Tableau II). (c) Des facteurs de corrélation familiale non spécifiques, c'est-à-dire sans hypothèse particulière sur leur origine (génétique ou environnementale). Leur principe de calcul est proche d'un calcul de corrélation classique entre deux variables quantitatives ; on peut ainsi déterminer un coefficient de corrélation époux-époux, père-enfant, mère-enfant et enfant-enfant.

Les différentes hypothèses pouvant expliquer les distributions familiales observées (présence de facteurs de milieu, de facteurs de corrélation familiale non spécifiques ou d'un gène majeur) peuvent s'emboîter les unes dans les autres et être testées les unes par rapport aux autres par des méthodes statistiques classiques (rapport de vraisemblance). Schématiquement, l'analyse peut se décomposer de la façon suivante :

- ajustement des données sur les facteurs de milieu influençant significativement le phénotype étudié ;
 - sur les données ajustées, on répond alors aux questions suivantes :
 - existe-t-il une ressemblance familiale ? On teste si la présence des facteurs de corrélation familiale non spécifiques améliore significativement l'explication des observations ;
 - si oui, cette ressemblance est-elle, au moins en partie, expliquée par la présence d'un gène majeur ? On ajoute l'effet du gène majeur aux facteurs de corrélation précédents et on teste si cet apport entraîne une amélioration significative ;
 - si oui, les distributions familiales observées sont-elles compatibles avec les lois de la transmission mendélienne ? Différents tests permettent alors de vérifier la compatibilité des distributions observées avec celles attendues d'après les lois de Mendel.
- Ce n'est qu'en cas de réponse positive à toutes ces questions que l'on pourra conclure, avec un risque minimal d'erreur, à la présence d'un gène majeur intervenant dans l'expression du phénotype étudié.

L'analyse de linkage permet de localiser le gène étudié sur le chromosome en étudiant dans les familles sa transmission conjointe avec des marqueurs génétiques. Cependant, cette méthode nécessite que le rôle de ce gène dans l'expression du phénotype étudié ait déjà été prouvé par d'autres moyens, et en particulier par une analyse de ségrégation préalable.

l'animal qui montraient un contrôle génétique de la susceptibilité à l'infection par *S. mansoni* des animaux de laboratoire. Pour évaluer cette hypothèse, nous ne pouvions évidemment pas utiliser les méthodes expérimentales (contrôle des croisements et de l'infection, lignées congéniques). Les moyens disponibles pour mettre en évidence l'intervention de facteurs génétiques dans des affections multifactorielles, comme les maladies infectieuses, sont des méthodes statistiques [11], essentiellement l'analyse de ségrégation et l'analyse de linkage (voir encart, ci-dessus).

Pour identifier les facteurs génétiques impliqués dans le contrôle de la susceptibilité à l'infection par *S. mansoni* chez l'homme, nous avons donc

entrepris une analyse de ségrégation sur des données recueillies à partir de 45 familles.

La première étape de cette analyse est l'ajustement des données brutes (niveaux d'infection) sur les facteurs dont nous avons pu démontrer l'influence sur l'infection (exposition au parasite, âge et sexe des individus). L'ajustement global sur ces trois facteurs a été effectué par régression multivariée.

L'analyse de ségrégation a été réalisée sur les phénotypes ajustés et en utilisant les deux modèles récemment décrits, le modèle mixte unifié et le modèle régressif ([12, 13] et encart ci-dessus). Ces modèles ont deux différences essentielles : d'une part, ils ne caractérisent pas les corrélations fami-

liales non spécifiques de la même façon ; d'autre part, le modèle régressif permet de considérer des grandes généalogies dans leur ensemble, alors que le modèle mixte unifié nécessite un découpage préalable de ces généalogies en leurs familles nucléaires (parent-enfant) constitutives.

Les résultats obtenus en analysant les données selon ces deux modèles sont similaires. Il y a une indication très claire en faveur d'un gène majeur contrôlant l'intensité de l'infection par *S. mansoni*, les distributions observées étant compatibles avec les lois de la transmission mendélienne. Les estimations des paramètres de ce gène majeur sont également proches avec les deux modèles utilisés.

Tableau I					
LOI DE HARDY-WEINBERG					
Cette loi stipule que dans une population sans sélection ni mutation et où les mariages se font au hasard (panmixie), les fréquences à l'origine, q et $1-q$, des allèles A et a d'un gène diallélique se maintiennent de génération en génération de même que la fréquence des génotypes associés AA, Aa et aa avec les valeurs données dans le tableau					
	Allèles		Génotypes		
	A	a	AA	Aa	aa
Fréquences	q	$1-q$	q^2	$2q(1-q)$	$(1-q)^2$

La fréquence de l'allèle de susceptibilité (A) est estimée entre 0,20 et 0,25. Il y a donc, selon la loi de Hardy-Weinberg (expliquée dans le Tableau I), environ 5 % d'homozygotes AA susceptibles, 60 % d'homozygotes aa résistants, et 35 % d'hétérozygotes Aa. La distribution globale du phénotype en présence d'un gène majeur est présentée dans la figure 3, p. 114. Le niveau de susceptibilité des hétérozygotes Aa est assez proche de celui des homozygotes résistants aa. Cependant, l'hypothèse d'un gène purement récessif (Aa et aa confondus) n'était pas compatible avec les données. Le génotype le plus probable des membres de cinq familles nucléaires, déterminé à partir de leur niveau d'infection ajusté pour l'effet de l'exposition (W), de l'âge (Y) et du sexe, est représenté sur la figure 4 (p. 115). Au total, l'ensemble des analyses permettent de conclure à la présence d'un

gène majeur contrôlant, chez l'homme, la susceptibilité à l'infection par *S. mansoni*. Les résultats obtenus avec deux modèles différents sont tout à fait concordants. Une analyse de *linkage* doit être maintenant effectuée pour confirmer l'existence de ce gène et le localiser dans le génome humain. Les principales conclusions des études épidémiologiques et génétiques sont ainsi les suivantes : (1) les variations inter-individuelles des niveaux d'infection peuvent être expliquées en partie seulement (20 à 25 % de la variance) par les effets de facteurs de milieu (écologiques et comportementaux) alors que des facteurs génétiques sont à l'origine de 30 à 40 % de la variance ; (2) le poids des facteurs de résistance (âge et gène majeur) est très important puisque leurs effets expliquent plus de 50 % de la variance des niveaux d'infection. Ce résultat montre que priorité doit être donnée aux

méthodes de contrôle, telle la vaccination, qui visent à augmenter les capacités de résistance ; (3) le contrôle de la résistance par un gène majeur suggère que les bas niveaux de résistance pourraient résulter d'altérations affectant une même fonction ; (4) les mécanismes de résistance se mettent en place lentement chez les enfants et les adolescents, probablement parce que ces mécanismes requièrent pour leur développement une exposition prolongée au parasite et de multiples réinfections. Ce processus est altéré chez les sujets très exposés à l'infection.

Quelle place accorder aux mécanismes d'immunité acquise dans la résistance ?

Des travaux (résumés dans [14]) conduits chez le rat, la souris et le singe montrent qu'une infection par des cercaires intactes ou irradiées, et que l'injection d'extraits ou d'antigènes parasitaires confèrent une certaine protection à ces animaux contre une surinfection par des cercaires. Les anticorps jouent un rôle important dans les mécanismes de protection, en particulier chez le rat et, dans une moindre mesure, chez la souris. Ceux-ci interviendraient dans la destruction du parasite, soit en activant le système du complément, soit en intervenant dans les réactions de cytotoxicité cellulaire (monocytes/macrophages et éosinophiles). Plusieurs études ont également montré la rapide transformation de la larve en un organisme réfractaire à la détection et à la destruction par le système immunitaire, soulignant ainsi l'importance d'une mobilisation rapide des réactions de défense au site de pénétration du parasite. Chez le rat, et probablement chez le singe, cette mobilisation s'effectue en grande partie par les médiateurs sécrétés par les mastocytes. Ces cellules sont armées par les IgE, le pontage des IgE par les antigènes larvaires stimule ces cellules, provoquant la sécrétion par celles-ci de puissants médiateurs de la réponse inflammatoire. En fait, le rôle des IgE dans les mécanismes de défense contre les infections par les helminthes ne se limite probablement pas à leurs propriétés sensibilisantes

Tableau II			
LOIS DE LA TRANSMISSION MENDÉLIENNE			
Le tableau donne la probabilité des génotypes d'un enfant conditionnellement à ceux de son père, Gp, et de sa mère, Gm. Les valeurs entre parenthèses donnent les probabilités correspondant aux génotypes AA, Aa et aa, respectivement			
Gp			
Gm	AA	Aa	aa
AA	(1 0 0)	(1/2 1/2 0)	(0 1 0)
Aa	(1/2 1/2 0)	(1/4 1/2 1/4)	(0 1/2 1/2)
aa	(0 1 0)	(0 1/2 1/2)	(0 0 1)

RÉFÉRENCES

1. Prata A. 1987. Schistosomiasis mansoni. In Brazil in Bailliere's Clinical. *Trop Med Comm Dis* 1987 ; 2 : 349-69.
2. Dessen AJ, Begley M, Demeure C, et al. Human resistance to *Schistosoma mansoni* is associated with IgG reactivity to a 37 kDa larval surface antigen. *J Immunol* 1988 ; 140 : 2727-36.
3. Abel L, Demeure F, Prata A, Souza AE, Dessen A. Evidence for the segregation of a major gene in human susceptibility/resistance to infection by *Schistosoma mansoni*. *Am J Hum Genet* 1991 ; 48 : 959-70.
4. Butterworth AE, Capron M, Cordingley JS, et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni. II. Identification of resistant individuals and analysis of their immune responses. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1985 ; 79 : 393-408.
5. Wilkins HA. Reinfection after treatment of schistosome infections. *Parasitol Today* 1989 ; 5 : 83-7.
6. Anderson RM, Mayer M. Herd immunity to helminth infections and implications for parasite control. *Nature* 1985 ; 315 : 493-6.
7. Clarke V. The influence of acquired resistance in the epidemiology of bilharziasis. *Centr Afr J Med* 1966 ; 12 (suppl) : 1-30.
8. Kloetzl K, Da Silva JR. Schistosomiasis mansoni acquired in adulthood : behaviour of egg counts and the intradermal test. *Am J Trop Med Hyg* 1967 ; 16 : 167-9.
9. Butterworth AE, Bensted-Smith R, Capron A, et al. Immunity in human schistosomiasis mansoni : prevention by blocking antibodies of the expression of immunity in young children. *Parasitology* 1987 ; 94 : 281-300.
10. Rihet P, Demeure CE, Bourgois A, Prata A, Dessen AJ. Evidence for an association between human resistance to *Schistosoma mansoni* and high anti-larval IgE levels. *Eur J Immunol* 1991 ; 2679-86.
11. Demeure F, Bonati C. Analyse de ségrégation, évolution des méthodes d'analyse. In : Feingold J, ed. *Génétique Médicale*. Paris : Éditions INSERM, 1981.

pour les mastocytes de la peau : ces infections sont en effet caractérisées par des taux d'IgE très élevés, 100 à 1 000 fois plus élevés que les taux observés dans d'autres infections et ces immunoglobulines interviennent efficacement dans la destruction des larves d'helminthes par les monocytes, les plaquettes et les éosinophiles [15-17] (dont le nombre dans le sang augmente considérablement dans ces infections). La résistance des rats à l'infection par certains helminthes, dont *S. mansoni*, est augmentée par le transfert passif de sérums immuns enrichis en IgE [18, 19] et est diminuée par la suppression néonatale de la synthèse d'IgE [20, 21].

Ces observations nous ont naturellement conduits à évaluer la réponse IgE chez les sujets très résistants et à comparer les résultats obtenus avec les observations effectuées chez les individus sensibles (*figure 5*, p. 116) : les taux sériques des IgE antilarvaires se sont avérés être, en moyenne, six à huit fois plus élevés dans le groupe résistant que dans le groupe sensible. Non seulement les sérums des sujets sensibles contenaient moins d'IgE anti-larvaires, mais encore ils renfermaient des taux élevés d'anti-

corps capables d'entrer très efficacement en compétition avec les IgE pour la fixation de l'antigène. Ce phénomène est illustré sur la *figure 6A*, p. 117, qui montre l'augmentation considérable du signal de détection des allergènes larvaires lorsque les IgE sont purifiées (+) avant d'être utilisées pour révéler les antigènes transférés sur filtre (comparer avec le signal obtenu avec les sérums non fractionnés (-)). Ces anticorps compétiteurs ont également été observés dans les sérums de sujets infectés par des filaires et sont bien connus des allergologues, car ils sont produits par les individus atopiques en cours de désensibilisation.

Ces observations nous ont amenés à prendre en compte l'effet des facteurs compétiteurs lors de l'évaluation des IgE dans la résistance. Cela fut l'objet d'une étude plus vaste, élargie à des sujets appartenant à toutes les classes d'âge et d'exposition. Tous les isotypes (excepté les IgA) ont été évalués simultanément comme variables explicatives des niveaux de réinfection après traitement. Le résultat de ces études multivariées (« multivariées » car elles évaluent simultanément plusieurs variables, par opposi-

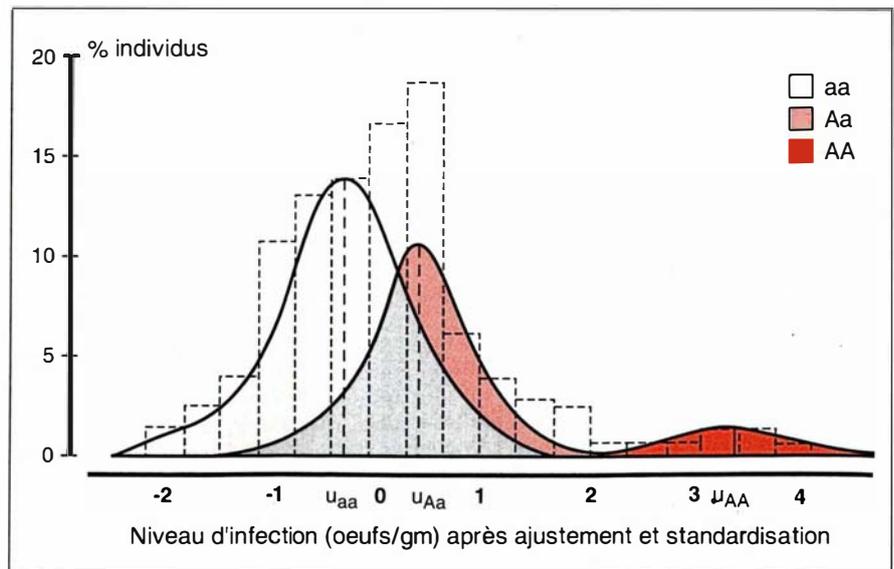


Figure 3. **Distribution du phénotype « intensité d'infection » telle qu'elle est prédite par le modèle du gène co-dominant majeur, en supposant une distribution normale pour chaque génotype.** L'histogramme représente la distribution des niveaux d'infection après ajustement et standardisation ; A : allèle de susceptibilité.

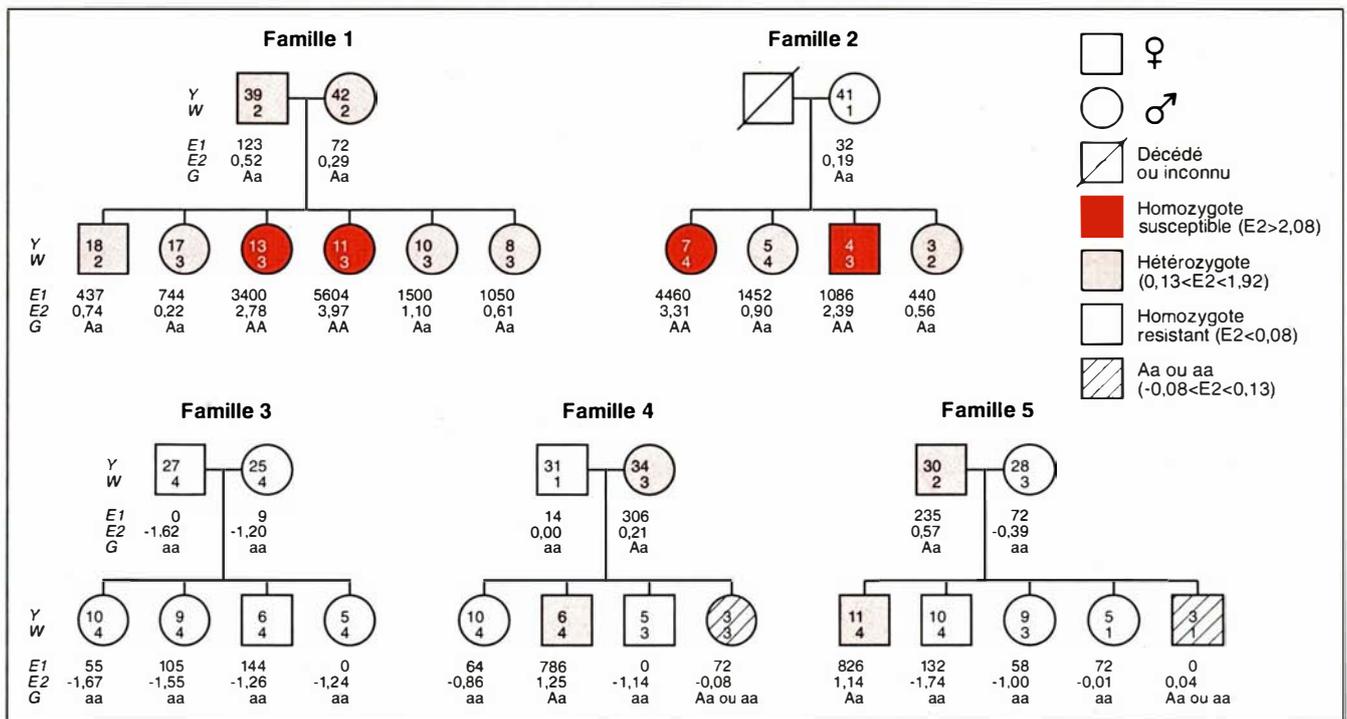


Figure 4. Age (Y) niveau d'exposition (W), niveau d'infection bruts (E1) et ajustés (E2) sur Y, W, le sexe et l'âge pour les membres de cinq familles. Le génotype G de chaque individu, dans le modèle du gène co-dominant majeur, est également indiqué.

tion aux analyses « univariées » qui étudient chaque variable successivement) confirma que les hauts niveaux de résistance sont associés à des taux d'IgE élevés. Mais cette association ne put être démontrée que lorsque les IgG4 (et seulement les IgG4) furent également incluses dans l'analyse statistique comme variable explicative ayant une association négative à la résistance. Ces résultats suggèrent que les IgE et les IgG4 exercent sur les capacités de résistance des effets antagonistes, positifs pour les IgE et négatifs pour les IgG4. La résultante de ces effets protecteurs des IgE et anti-protecteurs des IgG4 déterminerait, en partie, les niveaux de résistance. Des résultats comparables ont été obtenus par P. Hagan *et al.* [22] dans leur étude en Gambie sur des sujets infectés par l'agent de la bilharziose urinaire (*S. haematobium*). De récentes observations de Butterworth *et al.*, effectuées au Kenya chez des sujets infectés par *S. mansoni*, vont également dans le même sens (But-

terworth *et al.*, manuscrit soumis pour publication). Ces études indiquent aussi que le lent développement de la résistance avec l'âge, et son altération chez les adolescents très exposés, peuvent s'expliquer par les fluctuations de l'équilibre IgE/IgG4. En particulier, la forte exposition des jeunes adolescents produirait un déséquilibre de ce rapport en faveur des IgG4 qui, à la différence des IgE, augmentent avec l'exposition. L'effet anti-protecteur des IgG4 n'est pas complètement expliqué ; toutefois, de récents travaux ont montré que les IgG4 : (1) exercent un puissant effet compétiteur sur les IgE dans la fixation de ceux-ci à l'antigène et inhibent l'activation spécifique des basophiles (Demeure et Desein, manuscrit en préparation) et (2) pourraient bloquer certaines réactions d'ADCC (cytotoxicité dépendante des anticorps) [23]. Nous ignorons actuellement si le gène co-dominant majeur contrôle le rapport IgE/IgG4 ou si ses effets sont indépendants de celui-ci. Cette der-

nière possibilité n'est pas exclue car d'autres facteurs immunologiques, indépendants des IgE et IgG4, ont probablement une influence importante sur les niveaux de résistance. Ainsi, notre laboratoire et celui d'A. Butterworth [24] ont montré que les IgG2, dirigées essentiellement contre des déterminants sucrés, pourraient avoir un effet facilitant sur la réinfection, effet qui serait indépendant de l'âge et de l'effet des IgE et des IgG4. Cette dernière observation illustre la multiplicité des mécanismes qui interviennent pour déterminer les niveaux de résistance de l'être humain à *S. mansoni*. Parmi ces mécanismes, certains pourraient être contrôlés par le gène co-dominant majeur.

Vacciner contre les schistosomes

Parmi les moyens qui peuvent être utilisés pour augmenter la résistance des sujets vivant en zone endémique,

RÉFÉRENCES

12. Lalouel JM, Rao DC, Morton NE, Elston RC. A unified model for complex segregation analysis. *Am J Hum Genet* 1987 ; 35 : 816-26.

13. Bonney GE. On the statistical determination of major gene mechanisms in continuous human traits : regressive models. *Am J Med Genet* 1984 ; 18 : 731-49.

14. Vignali DAA, Bickle QD, Taylor MG. Immunity to *Schistosoma mansoni* in vivo : contradiction or clarification. *Immunol Today* 1989 ; 10 : 410-6.

15. Capron A, Dessaint JP, Capron M, Bazin H. Specific IgE antibodies in immune adherence of normal macrophages to *Schistosoma mansoni* schistosomules. *Nature* 1975 ; 253 : 474-5.

16. Capron M, Bazin H, Joseph M, Capron A. Evidence for IgE-dependent cytotoxicity by rat eosinophils. *J Immunol* 1981 ; 126 : 1764-8.

17. Joseph M, Auriault C, Capron A, Vorng M, Viens P. A new function for platelets : IgE dependent killing of schistosomula. *Nature* 1983 ; 303 : 810-2.

18. Ogilvie BM, Smithers SR, Terry RJ. Reagin-like antibodies in experimental infections of *Schistosoma mansoni* and the passive transfer of resistance. *Nature* 1966 ; 209 : 1221-3.

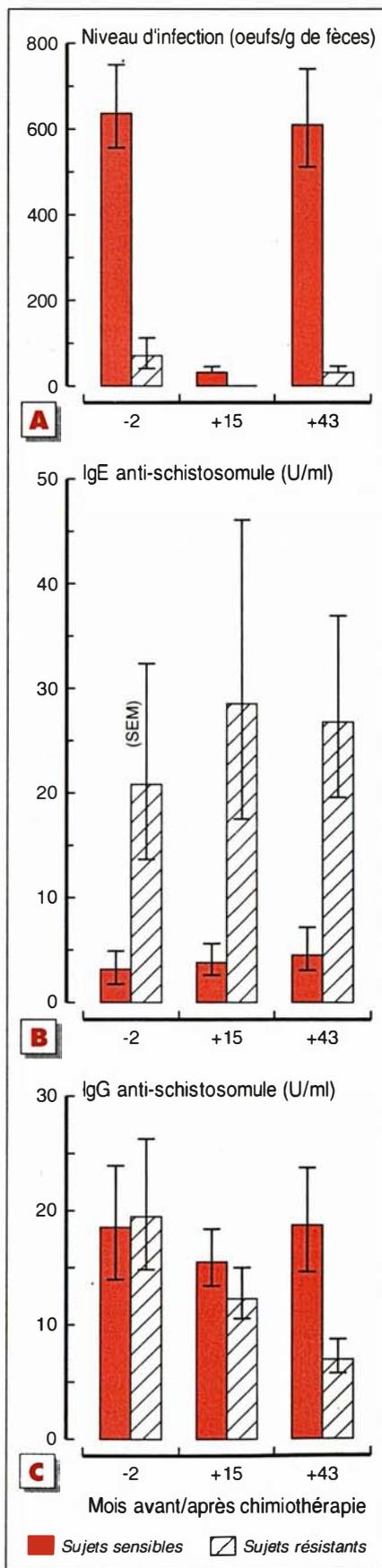
19. Capron A, Dessaint JP, Capron M, Joseph M, Pestel J. Role of anaphylactic antibodies in immunity to schistosomes. *Am J Trop Med Hyg*, 1980 ; 29 : 849-57.

20. Kigoni EP, Elsas PPX, Lenzi HL, Dessen AJ. IgE antibody and resistance to infection. II. Effect of IgE suppression on the early and late skin reaction and resistance to *Schistosoma mansoni* infection. *Eur J Immunol* 1986 ; 16 : 589-95.

21. Dessen AJ, Parker WL, James SL, David JR. IgE antibody and resistance to infection. Selective suppression of the IgE antibody response in rats diminishes the resistance and the eosinophil response to *Trichinella spiralis* infection. *J Exp Med* 1981 ; 153 : 423-36.

22. Hagan P, Blumenthal UJ, Dunn D, Simpson AJG, Wilkins HA, Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature* 1991 ; 349 : 243-5.

23. Khalife JD, Dunne DW, Richardson BA. *et al.* Functional role of human IgE subclasses in eosinophil mediated killing of schistosomula of *S. mansoni*. *J Immunol* 1989 ; 142 : 4422.



deux sont privilégiés : vaccination et chimiothérapie. Les effets de la chimiothérapie sur les niveaux de résistance ont été encore insuffisamment explorés ; il semble toutefois que le traitement par des agents schistosomicides pourrait augmenter la résistance, mais de manière transitoire seulement. La vaccination est sans aucun doute la méthode de contrôle la mieux adaptée aux conditions économiques et au système de santé des pays où se rencontrent les bilharzioses. Le vaccin peut être peu coûteux si les méthodes de génie génétique sont utilisées pour produire les antigènes vaccinaux ; l'utilisation de ces techniques est d'ailleurs requise par la nécessité de débarrasser le vaccin des constituants parasitaires qui sont toxiques, tolérogéniques ou pathogéniques. Ces antigènes pourraient être intégrés à un vaccin multivalent dirigé contre plusieurs agents infectieux : ainsi sa distribution ne nécessiterait pas de campagnes de vaccination particulières, d'autant que les vaccins sous-unitaires (constitués d'antigènes purifiés) sont plus stables que les vaccins constitués de parasi-

Figure 5. Les niveaux sériques des IgE antilarvaires (B) sont augmentés chez les sujets les plus résistants par comparaison à des sujets moins résistants. En revanche, les niveaux des IgG (C) et IgM sont, en général, comparables entre ces deux groupes et augmentent chez les sujets se réinfectant massivement. Les jeunes sujets de cette étude ont été divisés en deux groupes sur la base de leur niveau de résistance à l'infection avant et après déparasitage complet par l'oxamni-quine (A). Tous les sujets avaient un niveau d'exposition très élevé durant les 46 mois de cette étude. Certains (n = 20) étaient très infectés avant traitement, se réinfectèrent dans les 15 mois après traitement et développèrent des niveaux d'infection très élevés 43 mois après traitement. Ils furent considérés comme les plus susceptibles. Les sujets (n = 18) peu ou pas infectés, malgré un haut niveau d'exposition, résistèrent à la réinfection ou développèrent de faibles infections après traitement. Ils furent considérés comme les plus résistants.



Figure 6. **Mise en évidence de molécules allergéniques dans les extraits membranaires (A) et à la surface des larves (B).** A. Les extraits membranaires de larves ont été fractionnés par électrophorèse en gel d'acrylamide et transférés sur des filtres de nitrocellulose ; ces filtres ont été découpés en bandes et celles-ci ont été incubées, soit avec des sérums (-) prélevés sur les sujets étudiés, soit avec les fractions enrichies en IgE de ces sérums (+). Les IgE qui se sont fixées au filtre sont révélées avec une sonde spécifique des IgE et marquée à l'iode 125. B. Les larves vivantes ont été incubées avec des IgE purifiées des mêmes sérums ; après lavage, les IgE fixées à la surface des larves ont été révélées avec une sonde fluorescente spécifique des IgE.

tes atténués ou tués, lesquels requièrent souvent une chaîne du froid. Toutefois, la mise au point d'un vaccin anti-schistosome n'est pas une entreprise facile. Il faut se rappeler que les vaccins efficaces, disponibles en médecine humaine, protègent contre des agents infectieux bactériens ou viraux qui, en général, induisent un haut niveau de protection chez les individus qu'ils infectent [25], alors que les infections par les schistosomes, même répétées et traitées, ne stimulent pas une forte immunité protectrice. Cela est la conséquence de l'adaptation remarquable des parasites à leurs hôtes, laquelle leur permet d'échapper aux réactions du système immunitaire de celui-ci par toute une série de subterfuges tels la variation antigénique, le mimétisme

moléculaire ou l'induction d'états de paralysie immunologique. La sophistication de ces mécanismes d'échappement est à mettre en parallèle avec la possession par les parasites, organismes eucaryotes, d'un génome beaucoup plus important que celui des agents infectieux procaryotes. Malgré ces difficultés, plusieurs antigènes capables d'induire une protection incomplète mais réelle chez l'animal ont été identifiés et représentent une étape importante sur la voie du vaccin [26]. Certains de ces antigènes pourraient entrer bientôt en phase d'expérimentation chez l'être humain. L'objet de cet article n'est pas de détailler ces excellents travaux et le lecteur en trouvera une description concise dans de récentes revues [27-29].

En parallèle à ces études chez l'animal, les cibles de la réponse immune des sujets résistants à l'infection ont été également étudiées : la résistance a été associée à la production d'anticorps dirigés contre une protéine détectable à la surface de la larve [2]. L'analyse de la séquence en acides aminés de cet antigène révéla de fortes homologies (72 %) avec la séquence d'une enzyme de la glycolyse, la glyceraldéhyde-3-P-déshydrogénase (GADPH) [30]. Tous les acides aminés impliqués dans le site catalytique de l'enzyme sont conservés dans la molécule recombinante, indiquant que, très probablement, cet antigène possède l'activité catalytique GAPDH. D'autres cibles importantes de la réponse immune, en particulier certains antigènes pro-

RÉFÉRENCES

24. Butterworth AE, Dunne D, Fulford A, et al. Immunity in human *schistosomiasis mansoni*: crossreactive IgM and IgG2 anti-carbohydrate antibodies block the expression of immunity. *Biochimie* 1988 ; 70 : 1053.
25. Girard M. Les vaccins cent ans après Louis Pasteur. *Ann Inst Pasteur Actual* 1991 ; 1 : 102-13.
26. Wright MD, Davern KM, Mitchell GF. The functional and immunological significance of some schistosome surface molecules. *Parasitol Today* 1991 ; 7 : 56-8.
27. Simpson AJG, Cioli D. Progress towards a defined vaccine for schistosomiasis. *Parasitol Today* 1987 ; 3 : 26-8.
28. Colley DG, Colley MD. Protective immunity and vaccines to schistosomiasis. *Parasitol Today* 1989 ; 5 : 350-4.
29. Sher A, James SL, Correa-Oliveira R, Hiény S, Pierce E. Schistosome vaccines: current progress and future prospects. *Parasitology* 1989 ; 98 : 561-8.
30. Goudot-Crozel V, Caillol D, Djabali M, Dessen AJ. The major parasite surface antigen associated with human resistance to schistosomiasis is a 37 kDa glyceraldehyde-3-P dehydrogenase. *J Exp Med* 1989 ; 170 : 2065-79.
31. Gross A, Percy A, Harn D. Cloning and characterization of *Schistosoma mansoni* antigens recognized by protective antibodies. *Fed Am Soc Exp Biol J* 1988 ; 5582 (abstr.)
32. Smith DB, Davern KM, Board PG, Tiu WU, Garcia FG, Mitchell GF. Mr 26 000 antigen of *Schistosoma japonicum* recognized by resistant WEHI 129/J mice is a parasite glutathione S-transferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 8703.
33. Taylor JB, Vidal A, Torpier G, et al. The glutathione transferase activity and tissue distribution of a cloned Mr 28 K protective antigen of *Schistosoma mansoni*. *EMBO J* 1988 ; 7 : 465.
34. Matsumoto Y, Perry G, Levine RJC, Blanton R, Mammoud A, Aikawa M. Paramyosin et actin in schistosomal teguments. *Nature* 1988 ; 333 : 76-8.
35. Damian RT. Common antigens between adult *Schistosoma mansoni* and the laboratory mouse. *J Parasitol* 1967 ; 53 : 60-4.

tecteurs identifiés chez l'animal, présentent de fortes analogies avec des enzymes telles que la triose-P-isomérase [31] et la glutathione-S-transférase [32, 33]. Il est possible que ces enzymes, normalement cytosoliques, passent en surface du parasite au niveau des lésions qui sont infligées au tégument par le système immunitaire. Il est également possible que la GAPDH et la triose-P-isomérase, qui sont normalement étroitement associées à l'actine, viennent en surface lorsque l'actine fait protrusion dans les lésions du tégument, où elle pourrait organiser le processus de réparation [34].

La découverte de molécules fortement conservées à la surface du parasite n'est pas surprenante : ce résultat est en accord avec la théorie du mimétisme moléculaire suivant laquelle le parasite se couvre de molécules semblables à celles de son hôte pour échapper à la reconnaissance par les systèmes effecteurs de celui-ci [35]. Ce qui est plus inattendu, c'est que ces molécules soient des antigènes majeurs, cibles de la réponse anticorps. Il est possible que la conservation de ces antigènes soit à l'origine d'une restriction de leur immunogénicité à certains haplotypes du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) comme semblent l'indiquer les études sur l'immunogénicité de P-37 chez la souris. Une telle restriction compliquerait leur utilisation en vaccination ; cette difficulté pourrait être néanmoins résolue en incluant plusieurs antigènes dans un même vaccin, en particulier des antigènes portant des épitopes « universels » qui peuvent être présentés par tous les haplotypes HLA présents dans les populations à vacciner.

Les résultats obtenus dans l'étude de la réponse IgE plaident fortement pour l'inclusion, dans le vaccin, d'allergènes majeurs de la larve, en particulier ceux des allergènes présents en surface du parasite (figure 6). Peut-on mettre à profit les propriétés des IgE sans courir le risque de déclencher les réactions secondaires néfastes qui sont parfois si difficiles à contrôler chez les sujets atopiques ? L'absence de réactions allergiques chez les sujets vivant en zone d'endémie et résistant à l'infection suggère que cet objectif peut être atteint ;

comment y parvenir n'est, toutefois, pas encore écrit ■

Summary

Factors controlling resistance to schistosomiasis in endemic area

In endemic area of *schistosomiasis mansoni*, environmental factors account for 20 to 25 % of infection variance while 30 to 40 % of it are accounted for by the effects of a major co-dominant gene. Furthermore, resistance develops slowly in children and is altered in children and young adolescents with high water contacts. These factors, major gene and age, that act on resistance account for more than half of the variance of infection intensities indicating that control programmes must give a priority to measures aimed at increasing resistance. Immunological studies carried out in Brazil, in Kenya and in Gambia all suggest that the variations of resistance in children and adolescents could result from the slow development of a protective immunity mediated by IgE and antagonized by the blocking and competing action of IgG4. Though potent schistosomicides are available, prophylaxis, especially vaccination, is better suited for the control of this endemy. Antigens were identified in the analysis of the antibody response of resistant subjects and their vaccinating properties are evaluated. The implications of these findings for the control of schistosomiasis are discussed.

TIRÉS A PART

A. Dessen.